

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.)  
TERHADAP HISTOPATOLOGI OTOT JANTUNG TIKUS PUTIH (*Rattus  
norvegicus*) MODEL DIABETES MELITUS TIPE II**

**SKRIPSI**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



**TAUFIK RIDWAN HADI KUSUMA**

**G0015222**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA**

**2019**

## PENGESAHAN SKRIPSI

**Skrripsi dengan Judul:** Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Histopatologi Otot Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus Tipe II

Taufik Ridwan Hadi Kusuma, NIM : G0015222, Tahun : 2019


Telah diuji dan disahkan hadapan **Dewan Penguji Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret**

Selasa, Tanggal 12 Februari 2019

### Pembimbing Utama

Nama : Tri Agusti Sholikah, dr. M.Sc


NIP : 198108292009122004

(..........)

### Pembimbing Pendamping

Nama : Muthmainah, dr., M.Kes

NIP : 196607021998022001

(..........)

### Penguji Utama

Nama : Endang Listyaningsih S, dr., M.Kes

NIP : 196408101998022001

(..........)

Surakarta,.....

Ketua Tim Skripsi

Kepala Program Studi

  
Kusmadewi Eka D., dr., M.Gizi

NIP. 19830509 200801 2 005

  
Sinu Andhi Jusup, dr., M.Kes

NIP. 19700607 200112 1 002



## LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 12 Februari 2019



Taufik Ridwan Hadi Kusuma  
NIM. G0015222

## ABSTRAK

**Taufik Ridwan Hadi Kusuma, NIM: G0015222, 2018.** Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Histopatologi Otot Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus Tipe II. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

**Latar Belakang:** Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit tidak menular atau *non-communicable diseases* (NCDs) yang saat ini menyita banyak perhatian. Berdasarkan Global Status Report on NCD WHO tahun 2014, sebanyak 422 juta jiwa di dunia menderita diabetes melitus dan 1,5 juta jiwa meninggal dunia setiap tahunnya. Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) berpotensi sebagai antioksidan yang dapat mengurangi kerusakan oksidatif otot jantung pada diabetes melitus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada pengaruh ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.

**Metode Penelitian:** Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorik. Subjek penelitian berupa tikus putih jantan, galur Wistar, usia 2-3 bulan, dan berat badan 200-250 gram. Sampel berjumlah 24 ekor tikus putih yang dibagi secara random ke dalam 4 kelompok (KKN, KK-, KP1, dan KP2), masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor. Kelompok kontrol normal (KKN) tidak dibuat model diabetes melitus serta ekstrak daun kenikir. Pada KK-, KP1, dan KP2 dibuat model diabetes melitus melalui induksi STZ-NA pada hari ke-8. Pengamatan terhadap preparat dilakukan untuk melihat tingkat kerusakan sel otot jantung dengan menggunakan mikroskop cahaya. Data hasil penelitian dianalisis dengan uji *One-Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Multiple Comparisons* ( $\alpha=0,05$ ).

**Hasil penelitian:** Rerata persentase sel otot jantung normal terbanyak terdapat pada KKN dan yang terkecil terdapat pada KK-. Rerata persentase sel otot jantung normal meningkat pada KP1 dan KP2 dibandingkan dengan KK-. Uji *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan di antara empat kelompok perlakuan ( $p<0,05$ ). Uji *Post-Hoc Multiple Comparisons* menunjukkan perbedaan yang signifikan di antara semua pasangan kelompok ( $p<0,05$ ), kecuali pasangan kelompok KP1 dan KP2.

**Simpulan:** Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat memperbaiki gambaran histopatologi otot jantung dengan mengurangi jumlah sel yang rusak pada otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.

**Kata Kunci:** Ekstrak daun kenikir, jantung, tikus putih, histopatologi otot jantung.

## ABSTRACT

**Taufik Ridwan Hadi Kusuma, NIM: G0015222, 2018.** Effect of Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Leaf Extract on Cardiac Muscle Histopathology of Diabetes Mellitus Type 2 Rat (*Rattus norvegicus*) Model. Thesis. Faculty of Medicine Sebelas Maret University, Surakarta.

**Background:** Diabetes mellitus (DM) is one of the non-communicable diseases (NCDs) which currently attracts a lot of attention. Based on the 2014 Global Status Report on NCD, as many as 422 million people worldwide suffer from diabetes mellitus and causes 1.5 million deaths each year. Kenikir leaf (*Cosmos caudatus* Kunth.) extract has the potential as an antioxidant that reduce oxidative damage in the heart muscle of the diabetes mellitus patients. This study aims to determine whether there is significant effect of kenikir leaf (*Cosmos caudatus* Kunth.) extract on the histopathology of the heart muscle of white rat (*Rattus norvegicus*) with type 2 diabetes mellitus.

**Methods:** This study was an experimental laboratory research. The subjects of this study were male rats, Wistar strains, 2-3 months old, and weights 200-250 grams. The samples were 24 rats that divided randomly into 4 groups (KKN, KK-, KP1, and KP2), each group consist of 6 rats. Normal control group (KKN) was not modeled for diabetes mellitus and was not given of kenikir leaf extracts. While KK-, KP1, and KP2 are diabetes melitus rats modeled through induction of STZ-NA. The observation of the samples was carried out to see the heart muscle by using a light microscope. The results were analyzed by One-Way Anova test and followed by Post Hoc Multiple Comparisons test ( $\alpha = 0,05$ ).

**Result:** The highest percentage of normal cardiac muscle cell is in KKN and the lowest is in KK-. The One-Way Anova test showed a significant difference among four groups of samples ( $p < 0,05$ ). The Post-Hoc Multiple Comparisons test showed a significant difference between all pairs of groups ( $p < 0,05$ ) except in KP1 and KP2.

**Conclusion:** Kenikir leaf extract (*Cosmos caudatus* Kunth.) Can improve heart histopathology by reducing the number of damaged cardiac muscle cells in white rat (*Rattus norvegicus*) with type 2 diabetes mellitus.

**Keywords:** *Kenikir leaf extract, cardiac muscle, white rat, cardiac muscle histopathology.*

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Histopatologi Otot Jantung Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Model Diabetes Melitus Tipe II”

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat mendapatkan gelar sarjana di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tak lepas dari dukungan berbagai pihak. Maka penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Hartono, dr., M. Si selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Kusmadewi Eka Damayanti, dr., M. Gizi selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Tri Agusti Sholikah, dr M.Sc, selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi bagi penulis.
4. Muthmainah, dr., M.Kes, selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan masukan, saran, dan kritik demi kesempurnaan penulisan skripsi.
5. Endang Listyaningsih S, dr., M.Kes, selaku Penguji yang telah memberi masukan, saran, dan kritik demi kesempurnaan penulisan skripsi.
6. Laboran Pusat Studi Pangan dan Gizi, PAU Universitas Gadjah Mada, Pak Yuli yang telah membantu dalam mengurus hewan coba penelitian ini.
7. Staf Laboratorium Histologi, Pak Sukidi dan Mbak Dewi yang telah membantu persiapan dan penyediaan laboratorium.
8. Kedua orang tua, Bapak Wadimin Joko P dan Ibu Uswatun Khasanah dan kakak-kakak saya yang telah memberikan doa, dukungan, semangat, dan motivasi baik material maupun spiritual.
9. Hasna Aulia, Yoga, dan Syafii yang telah membantu selama mengurus dan pengambilan sampel penelitian ini, Keluarga Asisten Histologi 2015, Bismillah Production, teman-teman “Kos Aufa” yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan motivasi selama pembuatan skripsi ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini,

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh pembaca.

Surakarta, 12 Februari 2019

Taufik Ridwan Hadi Kusuma

## DAFTAR ISI

PRAKATA .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	4
BAB 2 LANDASAN TEORI .....	6
A. Tinjauan Pustaka .....	6
1. Diabetes Melitus .....	6
a. Definisi .....	6
b. Tipe Diabetes Melitus .....	6
c. Komplikasi Diabetes Melitus .....	8
2. Jantung .....	12
a. Anatomi Jantung .....	12
b. Histologi Jantung .....	13
c. Histologi Otot Jantung pada Kardiomiopati Diabetik .....	15
3. Kenikir .....	16
a. Taksonomi .....	16
b. Deskripsi .....	17
c. Kandungan Senyawa .....	18
4. Streptozotosin dan Nikotinamid .....	20
5. Mekanisme Kerja Ekstrak Daun Kenikir dalam Mengurangi Kerusakan Otot Jantung pada Tikus Model DM tipe II .....	20
B. Kerangka Pemikiran .....	22

C. Hipotesis .....	23
BAB III METODE PENELITIAN .....	24
A. Jenis Penelitian.....	24
B. Lokasi Penelitian.....	24
C. Subjek Penelitian.....	24
D. Teknik Sampling.....	25
E. Rancangan Penelitian .....	25
F. Variabel Penelitian .....	27
G. Definisi Operasional.....	27
H. Instrumen dan Bahan Penelitian .....	29
I. Prosedur Penelitian.....	30
J. Alur Penelitian .....	37
K. Teknik Analisis Data Statistik .....	39
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	40
A. Data Hasil Penelitian.....	40
1. Data Kadar Glukosa Darah Tikus .....	40
2. Data Persentase Sel Otot Jantung Normal Tikus Putih .....	42
B. Analisis Data.....	44
BAB V PEMBAHASAN .....	47
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN .....	53
A. Simpulan.....	43
B. Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA .....	54



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Tanda dan Gejala Hipoglikemia .....	9
Tabel 4.1 Rerata Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) pada Masing-Masing Kelompok.....	40
Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> Data Persentase Sel Otot Jantung Normal Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	45
Tabel 4.3 Hasil Uji <i>Post-Hoc Multiple Comparisons</i> Data Persentase Sel Otot Jantung Normal Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anatomi Jantung.....	11
Gambar 2.2 Epikardium, pengecatan HE, 400x .....	12
Gambar 2.3 Miokardium, pengecatan HE, 400x .....	13
Gambar 2.4 Endokardium, pengecatan HE, 400x .....	13
Gambar 2.5 Perbandingan Gambaran Histologi Otot Jantung Normal (N) dengan Kardiomiopati Diabetik (DCM). Pewarnaan HE, 400x.....	14
Gambar 2.6 Tanda Kematian pada Sel .....	16
Gambar 2.7 Daun Kenikir .....	17
Gambar 2.8 Tanaman Kenikir .....	18
Gambar 2.9 Kerangka Pemikiran .....	22
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian .....	26
Gambar 3.2 Alur Penelitian.....	37
Gambar 4.1 Grafik Rerata Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) pada Tiap Kelompok .....	41
Gambar 4.2 Rerata Persentase Sel Otot Jantung Normal Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) pada Tiap Kelompok .....	43
Gambar 4.3 Preparat otot jantung pada masing-masing kelompok.....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Kelaikan Etik (*Ethical Clearance*)

Lampiran 2. Surat Keterangan Justifikasi Simplisaia

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

Lampiran 4. Tabel Glukosa Darah Puasa Tikus Tiap Kelompok Perlakuan

Lampiran 5. Gambaran Mikroskopis Sel Otot Jantung Tiap Kelompok Perlakuan

Lampiran 6. Persentase Sel Otot Jantung Normal Tiap Hewan Coba

Lampiran 7. Hasil Analisis Uji Statistik *Saphiro-Wilk*, *Levene*, *One-Way Anova*,  
dan Uji *Post Hoc Multiple Comparisons*

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit tidak menular atau *non-communicable diseases* (NCDs) yang saat ini menyita banyak perhatian. Diabetes merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan kadar glukosa darah puasa yang tinggi ( $>126$  mg/dL) akibat tidak adanya hormon insulin atau organ tubuh tidak bisa menggunakan hormon insulin dengan baik. Berdasarkan *Global Status Report on NCD WHO* tahun 2014, sebanyak 422 juta jiwa di dunia menderita diabetes melitus dan 1,5 juta jiwa meninggal dunia setiap tahunnya (WHO, 2014). Sedangkan di Indonesia 12,1 juta jiwa menderita diabetes melitus pada tahun 2013 dan diperkirakan akan terus meningkat jumlahnya (Depkes RI, 2013).

Saat ini, diabetes melitus merupakan ancaman serius bagi pembangunan kesehatan karena dapat menimbulkan berbagai macam komplikasi (Depkes RI, 2013). Komplikasi tersebut dapat berupa kebutaan pada diabetes retinopati, gagal ginjal pada diabetes nefropati, dan penyakit sistem kardiovaskuler (Fowler, 2008). Komplikasi terjadi karena kerusakan dalam berbagai organ akibat tingginya kadar glukosa di dalam darah atau hiperglikemia. Kerusakan pada pembuluh darah kecil atau mikroangiopati, kerusakan saraf atau neuropati, perubahan metabolisme glukosa, dan kerusakan oksidatif akibat peningkatan radikal bebas merupakan perubahan-perubahan yang banyak



menimbulkan munculnya komplikasi pada penderita diabetes melitus (Fowler, 2008).

Salah satu komplikasi dari diabetes melitus pada sistem kardiovaskuler adalah kardiomiopati diabetik. Penyakit ini merupakan salah satu komplikasi dari diabetes melitus yang berpotensi mengakibatkan kematian, karena dapat mengakibatkan gagal jantung (Kobayashi dan Liang, 2015). Kardiomiopati terjadi karena adanya kerusakan oksidatif akibat peningkatan radikal bebas pada otot jantung (Li et al., 2009). Penyakit ini ditandai dengan adanya perubahan struktur pada otot jantung berupa peningkatan jumlah jaringan parut atau fibrosis yang menyebabkan gangguan fungsi ventrikel terutama ventrikel kiri (Miki et al., 2013). Penelitian menunjukkan diabetes kardiomiopati dapat meningkatkan risiko gagal jantung sebesar 31 % (Dandamudi et al., 2014).

Saat ini sudah terdapat berbagai macam terapi untuk penderita diabetes melitus seperti injeksi insulin dan obat antidiabetik seperti sulfonilurea dan biguanida (Nyenwe et al, 2011). Namun angka kematian akibat diabetes melitus dan komplikasinya masih cukup tinggi (WHO, 2014). Oleh karena itu pengembangan terapi untuk diabetes melitus dan komplikasinya masih merupakan suatu hal yang menarik untuk diteliti.

Salah satu metode terapi untuk diabetes melitus yang sedang banyak diteliti adalah penggunaan zat antioksidan. Hal ini disebabkan karena berbagai macam komplikasi dari diabetes melitus, terutama komplikasi pada sistem kardiovaskuler terjadi akibat proses kerusakan oksidatif. (Johansen et al., 2005). Penggunaan antioksidan pada terapi diabetes melitus diharapkan dapat

mengurangi proses kerusakan oksidatif tersebut sehingga menghambat terjadinya komplikasi (Golbidi et al., 2011).

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) merupakan tanaman yang di Indonesia sering digunakan sebagai tanaman hias maupun sayuran pelengkap pada makanan tradisional seperti pecel. Daun kenikir mengandung senyawa aktif fenolik, flavonoid, flavon dan flavonol. Flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang dapat mengurangi kerusakan jaringan akibat stres oksidatif (Pietta, 2000). Penelitian oleh Lotulung, et al., (2001) mengenai kandungan flavonoid pada 11 tanaman di Indonesia menunjukkan ekstrak daun kenikir mengandung flavonoid dengan kadar yang cukup tinggi yaitu 52 mg/100 g daun kenikir (Lotulung et al., 2001). Dari 11 tanaman tersebut kenikir menempati peringkat kedua berdasarkan jumlah kandungan flavonoidnya, sedikit di bawah daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). Selain itu efek samping dari konsumsi daun kenikir dalam jumlah banyak tergolong ringan seperti mual, perut kembung, dan diare (Cheng et al., 2015). Oleh karena itu ekstrak daun kenikir diharapkan dapat mengurangi kerusakan pada otot jantung akibat diabetes melitus.

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.

## B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II?
2. Apakah peningkatan dosis ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II?

## C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui bagaimana pengaruh ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.
2. Untuk mengetahui apakah peningkatan dosis ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.

## D. Manfaat

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.

2. Manfaat Aplikatif

Dapat menjadi sumber bahan untuk penelitian selanjutnya mengenai potensi ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) sebagai salah satu

sumber antioksidan yang berpotensi mengurangi kerusakan sel otot jantung pada penderita diabetes melitus.



## **BAB II**

### **LANDASAN TEORI**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

##### **1. Diabetes Melitus**

###### **a. Definisi**

Diabetes melitus merupakan suatu kelainan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia kronis yang disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (WHO, 2014). Diabetes melitus memiliki ciri khas yaitu kadar glukosa darah puasa  $>126$  mg/dL disertai poliuri, polifagi, dan polidipsi (Fournier, 2000). Diabetes melitus terjadi karena gangguan sekresi insulin, gangguan kerja insulin, maupun keduanya (WHO, 2014). Dalam jangka panjang, diabetes melitus dapat mengakibatkan kerusakan pada berbagai organ terutama ginjal, mata, dan organ sistem kardiovaskular (Fowler, 2008).

###### **b. Tipe Diabetes Melitus**

Berdasarkan etiologinya, diabetes melitus dapat dibagi menjadi 3 jenis yaitu

###### **1) Diabetes Melitus Tipe 1**

Diabetes melitus tipe 1 merupakan salah satu jenis diabetes yang disebabkan oleh adanya kerusakan sel  $\beta$  pankreas melalui suatu proses autoimun (National Institute of Diabetes and Digestive

and Kidney Diseases, 2014). Kerusakan sel  $\beta$  pankreas ini kemudian akan menyebabkan pankreas tidak dapat memproduksi insulin. Oleh karena itu penderita diabetes melitus tipe 1 akan selalu memerlukan injeksi insulin selama masa hidupnya agar metabolisme glukosa dapat terus berjalan (Shrivastava dan Ramasamy, 2013).

## 2) Diabetes Melitus Tipe II

Diabetes melitus tipe II merupakan jenis diabetes yang terjadi karena resistensi insulin (Kumar et al., 2005). Diabetes melitus tipe II merupakan tipe yang dominan pada orang dewasa, dengan prevalensi 90-95% dari seluruh diabetes (CDC, 2018). Pada diabetes melitus tipe II, pankreas dapat menghasilkan insulin namun insulin yang dihasilkan tidak mampu merangsang sel-sel target seperti lemak dan otot untuk menyerap glukosa (Garvey et al, 1998). Hal tersebut mengakibatkan kadar glukosa di dalam darah tetap tinggi.

## 3) Diabetes Gestasional

Merupakan jenis diabetes yang disebabkan karena intoleransi glukosa yang terjadi pada saat kehamilan. Saat ini penyebab pasti dari diabetes gestasional masih belum diketahui secara pasti (Law dan Zhang, 2017). Interferensi oleh hormon kehamilan pada reseptor insulin dan obesitas diduga merupakan penyebab dari diabetes gestasional (Law dan Zhang, 2017).

### c. Komplikasi Diabetes Melitus

#### 1) Komplikasi Akut

Komplikasi akut yang sering terjadi pada penderita diabetes melitus yang sering terjadi adalah hipoglikemia, dan ketoasidosis diabetik (KAD) (Soelistijo et al., 2015).

##### a) Hipoglikemia

Hipoglikemia adalah penurunan konsentrasi glukosa dalam serum dengan atau tanpa disertai dengan gejala-gejala pada sistem otonom seperti *Whipple's triad* (Soelistijo et al., 2015). Hipoglikemia ditandai dengan menurunnya kadar glukosa serum  $<70$  mg/dl (Soelistijo et al., 2015). Beberapa jenis obat seperti sulfonilurea dapat mengakibatkan hipoglikemia dalam waktu yang lama. Oleh karena itu, pengawasan konsentrasi glukosa serum pada penderita dengan hipoglikemia harus dilakukan selama 24-72 jam (Soelistijo et al., 2015).

**Tabel 2.1.** Tanda dan gejala hipoglikemia (Soelistijo et al., 2015)

Tipe	Tanda	Gejala
Autonomik	Rasa lapar, gelisah, berkeringat, palpitasi	pucat, <i>widened pressure</i> takikardi, <i>pulse</i>
Neuroglikopenik	Lemah, lesu, <i>dizziness</i>	hipotermia, koma kejang,

#### b) Ketoasidosis diabetik

Ketoasidosis diabetik (KAD) merupakan komplikasi akut dari diabetes melitus yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah yang tinggi (300-600 mg/dl), yang disertai gejala asidosis ( $\text{pH} < 7,32$  dan kadar bikarbonat  $< 15 \text{ mEq/L}$ ) dan senyawa keton (+) di dalam plasma (Soelistijo et al., 2015). Ketoasidosis diabetik memiliki beberapa gejala klinis yang khas seperti penurunan kesadaran hingga koma (pada 10% kasus), napas cepat dan dalam (pernapasan *Kussmaul*), nafas berbau aseton, hipotensi, dan takikardi (Seth et al., 2015). Ketoasidosis diabetik memiliki angka mortalitas dan morbiditas yang sangat tinggi, sehingga memerlukan penanganan segera di rumah sakit guna mendapatkan penatalaksanaan yang memadai (Soelistijo et al., 2015).

#### 2) Komplikasi Kronis

Komplikasi kronis pada diabetes melitus dapat dibagi menjadi dua yaitu komplikasi makrovaskuler dan mikrovaskuler (Soelistijo et al., 2015).

##### a) Komplikasi Makrovaskuler (Makroangiopati)

Komplikasi makrovaskular akibat diabetes melitus atau makroangiopati diabetik merupakan salah satu komplikasi kronis dari diabetes melitus yang terjadi karena gangguan integritas pembuluh darah besar terutama pembuluh



darah jantung, pembuluh darah tepi, dan pembuluh darah otak (Tarigan et al., 2015). Pada pembuluh darah jantung, makroangiopati sering terjadi pada arteri koroner, menyebabkan penyakit jantung koroner (Soelistijo et al., 2015). Pada pembuluh darah tepi, makroangiopati menyebabkan pembuluh darah menyempit sehingga suplai darah ke ekstremitas berkurang sehingga terjadi *peripheral artery disease* (PAD) (American Heart Association, 2016). PAD dapat mengakibatkan muncul rasa nyeri, timbul ulkus, hingga kematian jaringan atau *gangrene* pada ekstremitas terutama kaki (American Heart Association, 2016). Makroangiopati yang terjadi pada pembuluh darah otak dapat mengakibatkan stroke iskemik maupun stroke hemoragik (Soelistijo et al., 2015).

b) Komplikasi Mikrovaskular (Mikroangiopati)

Mikroangiopati merupakan kelainan pada pembuluh darah kecil yang seringkali terjadi akibat diabetes melitus yang kronis. Hiperglikemia yang terjadi secara kronis akan mengakibatkan perubahan struktur pada endotel pembuluh darah kecil atau kapiler (Zatz dan Brenner, 1986). Pada mikroangiopati, terjadi vasodilatasi kapiler, penebalan membran basalis, dan penyempitan lumen, yang pada akhirnya menyebabkan obstruksi pembuluh darah kapiler sehingga

menghambat suplai darah ke jaringan (Zatz dan Brenner, 1986). Beberapa organ tubuh yang sering terkena dampak dari mikroangiopati adalah ginjal (nefropati), retina (retinopati), dan saraf perifer (neuropati) (Soelistijo et al., 2015).

### 3) Komplikasi Diabetes Melitus pada Jantung

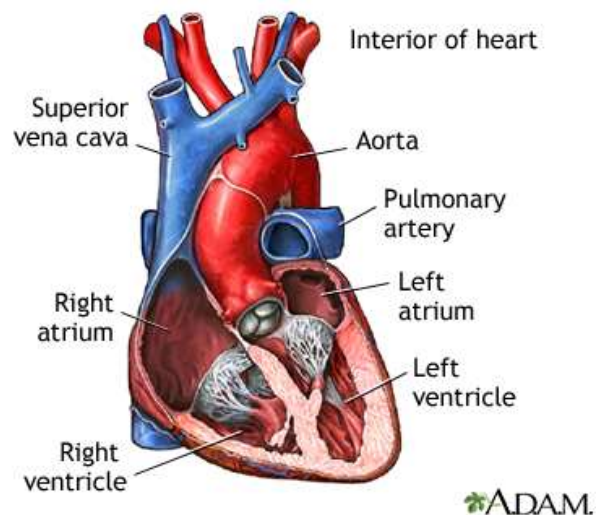
Salah satu komplikasi dari diabetes melitus yang sering terjadi pada jantung adalah kardiomiopati diabetik. Penyakit ini ditandai dengan perubahan struktur pada otot jantung yang terjadi sebagai akibat dari diabetes melitus yang terjadi secara kronis (Boudina dan Abel, 2010). Hiperglikemia kronis yang terjadi pada penderita diabetes melitus akan menyebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS). *Reactive oxygen species* ini kemudian akan merusak lipid, DNA, RNA, dan memicu terjadinya nekrosis pada sel (Sharma et al., 2012). Hal tersebut kemudian menyebabkan peningkatan kematian sel miosit pada otot jantung, dan peningkatan aktivitas *TGF- $\beta$ -receptor II* yang pada akhirnya memicu terjadinya fibrosis dan disfungsi otot jantung (Boudina dan Abel, 2010). Manifestasi klinis dari kardiomiopati diabetik pada manusia adalah disfungsi diastolik dimana terjadi gangguan pengisian darah dari atrium menuju ventrikel. Hal ini akan mengakibatkan peningkatan tekanan pada sirkulasi pulmoner dan kongesti sirkulasi sistemik.

Peningkatan tekanan inilah yang meningkatkan risiko terjadinya gagal jantung (Katz, 1990).

## 2. Jantung

### a. Anatomi Jantung

Jantung adalah organ yang berfungsi memompa darah dan oksigen ke tubuh dengan kontraksi ritmik dan berulang (Volpe dan Makaryus, 2018). Jantung normal terdiri dari empat ruang yang terdiri dari dua atrium dan dua ventrikel. Dinding yang memisahkan kedua atrium dan ventrikel menjadi bagian kanan dan kiri dinamakan septum (Anderson et al., 2004). Di antara ventrikel dan atrium terdapat katup jantung yaitu katup mitral dan katup tricuspid (Anderson et al., 2004). Ilustrasi mengenai anatomi jantung dapat dilihat pada (Gambar 2.1).



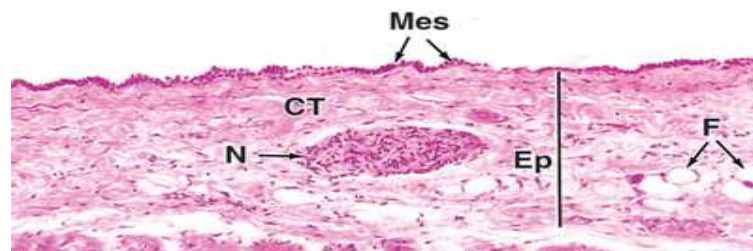
**Gambar 2.1.** Anatomi jantung (Martin, 2016)

## b. Histologi Jantung

Secara histologis, jantung dapat dibagi menjadi beberapa lapisan yaitu epikardium, miokardium, subendokardium, dan endokardium.

### 1) Epikardium

Epikardium merupakan jaringan mesothelium dengan sel skuamosa simpleks yang disokong oleh jaringan ikat yang dilewati pembuluh darah dan serabut saraf (Gambar 2.2). Epikardium memiliki struktur yang sama dengan lapisan *visceral* dari perikardium (Junqueira, 2015). Pada bagian luar dari epikardium terdapat cairan pelumas yang diproduksi oleh sel mesothelium. Cairan ini berfungsi untuk mencegah terjadinya gesekan antara epikardium dengan perikardium (Junqueira, 2015).



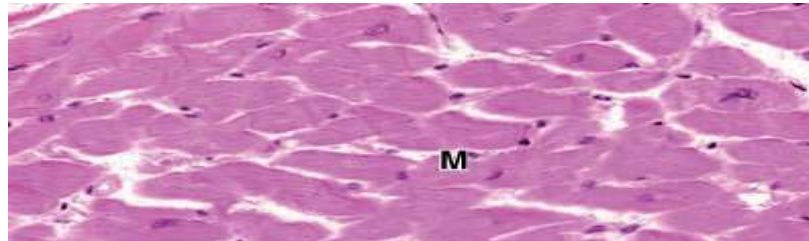
**Gambar 2.2.** Epikardium, pengecatan HE, 100x (Mescher, 2015)

### 2) Miokardium

Miokardium merupakan lapisan yang paling tebal pada jantung. Miokardium tersusun atas sel otot jantung yang tersusun spiral mengelilingi setiap ruangan pada jantung (Junqueira, 2015). Otot jantung yang terdapat pada lapisan ini berfungsi untuk memompa darah, baik dari atrium menuju ventrikel maupun dari



ventrikel ke seluruh tubuh. Karena tenaga yang diperlukan untuk memompa darah keluar dari jantung lebih besar, miokardium pada bagian ventrikel lebih tebal dibandingkan pada bagian atrium (Junqueira, 2015).



**Gambar 2.3.** Miokardium, pengecatan HE, 400x (Mescher, 2015)

### 3) Endokardium

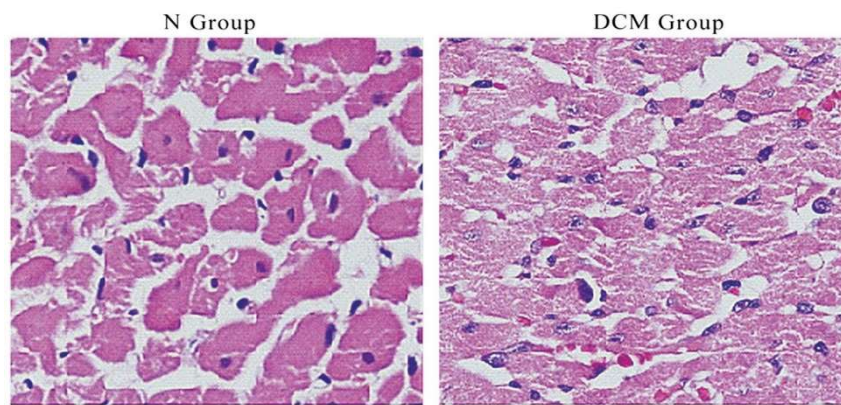
Endokardium terdiri lapisan endotel tipis dan jaringan ikat penyokongnya, dengan sedikit serabut otot polos pada bagian tengahnya (Junqueira, 2015). Pada bagian yang dekat dengan miokardium, terdapat lapisan yang terbuat dari jaringan ikat tebal yaitu lapisan subendokardium. Pada lapisan ini terdapat modifikasi dari serabut otot jantung yang berfungsi untuk menghantarkan impuls listrik jantung (Junqueira, 2015).



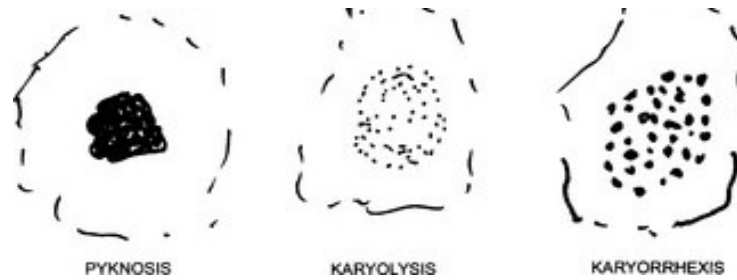
**Gambar 2.4.** Endokardium, pengecatan HE, 400x (Mescher, 2015)

c. Histopatologi Otot Jantung pada Kardiomiopati Diabetik

Secara histologis, pada kardiomiopati diabetik dapat ditemukan adanya fibrosis pada jaringan ikat interstitial dan *perivascular fibrosis* (Boudina dan Abel, 2010). Selain itu penelitian lain menunjukkan adanya penurunan intensitas pengecatan yang terjadi karena berkurangnya jumlah miofibril pada otot jantung (Gambar 2.5) (Radu et al., 2012; Zhang dan Wei, 2013). Hal ini diduga menjadi penyebab terjadinya penurunan kontraktilitas yang berujung pada disfungsi diastolik. Pada nukleus dapat ditemukan beberapa tanda nekrosis seperti piknotik, inti hiperkromasi, karioreksis, dan kariolisis (Gambar 2.6) (Radu et al., 2012; Jokinen et al., 2011).



**Gambar 2.5.** Perbandingan gambaran histologi otot jantung normal (N) dengan kardiomiopati diabetik (DCM). Pewarnaan HE, 400x. (Zhang dan Wei, 2013)



**Gambar 2.6.** Tanda kematian pada sel (Damjanov, 2016)

3. Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

a. Taksonomi

Divisi: Spermatophyta

Sub divisi: Angiospermae

Kelas: Dicotyledonae

Bangsa: Asterales

Suku: Asteraceae

Marga: Cosmos

Jenis: *Cosmos caudatus* Kunth.

(Sarmoko dan Sulistyorini, 2010)

b. Deskripsi

Kenikir atau sering dikenal sebagai ulam raja di Sumatera merupakan tanaman perdu dengan tinggi 75-100 cm dan berbau khas. Kenikir memiliki Batang tegak, berbentuk segi empat, beralur membujur, bercabang banyak, beruas berwarna hijau keunguan. Daunnya majemuk, bersilang berhadapan, berbagi menyirip, ujung runcing, tepi rata, panjang 15-25 cm, berwarna hijau (Gambar 2.7). Bunga majemuk, bentuk bongkol, di ujung batang, tangkai panjang  $\pm$

25 cm, mahkota terdiri dari 8 daun mahkota, panjang  $\pm 1$  cm, merah, benang sari bentuk tabung, kepala sari coklat kehitaman, putik berambut, hijau kekuningan, merah (Gambar 2.8). Buahnya keras, bentuk jarum, ujung berambut, masih muda berwarna hijau setelah tua coklat. Biji keras, kecil, bentuk jarum, panjang  $\pm 1$  cm, berwarna hitam. Kenikir memiliki akar tunggal dan berwarna putih (Sarmoko dan Sulistyorini, 2010).



**Gambar 2.7.** Daun kenikir (Sarmoko dan Sulistyorini, 2010).



**Gambar 2.8.** Tanaman Kenikir (Blanco, 1883).

Di Indonesia, daun kenikir biasanya ditanam disekitar rumah sebagai tanaman hias. Daun kenikir yang masih muda dan pucuknya dapat digunakan untuk sayur lalapan untuk dimakan mentah. Di Pulau Jawa kenikir biasa digunakan sebagai salah satu sayuran yang ada dalam makanan tradisional pecel (Dwiyanti, 2014).

c. Kandungan Senyawa

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mengandung saponin, flavonoid polifenol dan minyak atsiri. Daun kenikir memiliki rata-rata kandungan flavonoid yang tergolong tinggi, yaitu 52,1 mg/100gr (Andarwulan et al., 2010). Kenikir mengandung beberapa jenis flavonoid diantaranya myricetin, kuersetin, kaempferol, luteolin dan apigenin. Jenis flavonoid yang banyak terdapat pada daun kenikir yaitu kuersetin dan kaempferol, dengan bekisar antara 0,3-143 mg/100 g berat basah (Andarwulan et al., 2010). Sedangkan pada bagian akarnya kenikir mengandung hidroksieugenol dan koniferil alkohol (Fuzzati et al., 1995).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang dapat ditemukan di dalam tumbuhan dan jamur. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang tersusun dari 15 atom karbon dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Kanadaswami et al., 2005). Berdasarkan sistem nomenklatur IUPAC saat ini terdapat 3 jenis flavonoid yaitu bioflavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid (McNaught dan Wilkinson, 2014).

Pada tanaman, flavonoid memiliki berbagai fungsi seperti proteksi dari sinar UV, menghambat pertumbuhan parasit (*phytoalexin*), hingga membantu proses penyerbukan (Gil dan Couto, 2013). Saat ini flavonoid banyak diteliti karena dapat berperan sebagai salah satu senyawa antioksidan. Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuannya untuk mengikat radikal bebas seperti ROS dengan cara mendonasikan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya sehingga terbentuk ikatan stabil antara flavonoid dengan radikal bebas (Kumar dan Pandey, 2013). Selain mengikat radikal bebas flavonoid juga dapat menghambat pembentukan dari radikal bebas itu sendiri dengan cara menghambat aktivitas enzim atau berikatan dengan zat yang berperan dalam pembentukan radikal bebas membentuk *chelate* (Kumar dan Pandey, 2013). Selain antioksidan, flavonoid juga memiliki sifat anti-inflamasi, anti-mikrobia, dan anti-jamur (Cazarolli et al., 2008).

#### 4. Streptozotisin dan Nikotinamid

Streptozotisin (STZ) dan nikotinamide (NA) merupakan suatu senyawa yang sering digunakan pada penelitian untuk menginduksi terjadinya diabetes melitus tipe II pada hewan coba. Streptozotisin ketika diberikan pada hewan coba akan merusak sel  $\beta$  pankreas dengan cara alkilasi DNA pada sel  $\beta$ . Proses alkilasi ini akan memicu aktivasi dari enzim *Poly [ADP-ribose] polymerase 1* (PARP-1) yang berfungsi untuk *DNA repair*. Aktifnya PARP-1 akan mengurangi stok  $\text{NAD}^+$  pada sel yang diperlukan untuk membentuk ATP. Berkurangnya stok  $\text{NAD}^+$  di dalam sel

akan mengganggu produksi ATP dari sel, kemudian menyebabkan kematian sel  $\beta$  pada pankreas secara nekrosis (Szkudelski, 2012). Kerusakan sel  $\beta$  menyebabkan terganggunya produksi insulin yang menyebabkan diabetes melitus.

Nikotinamid berfungsi untuk melindungi sebagian dari sel beta pankreas dari streptozotosin dengan cara menghambat enzim PARP-1 yang dapat memicu terjadinya nekrosis. Variasi antara dosis streptozotosin dan nikotinamid digunakan untuk mengatur tingkat keparahan diabetes melitus pada hewan coba (Szkudelski, 2012).

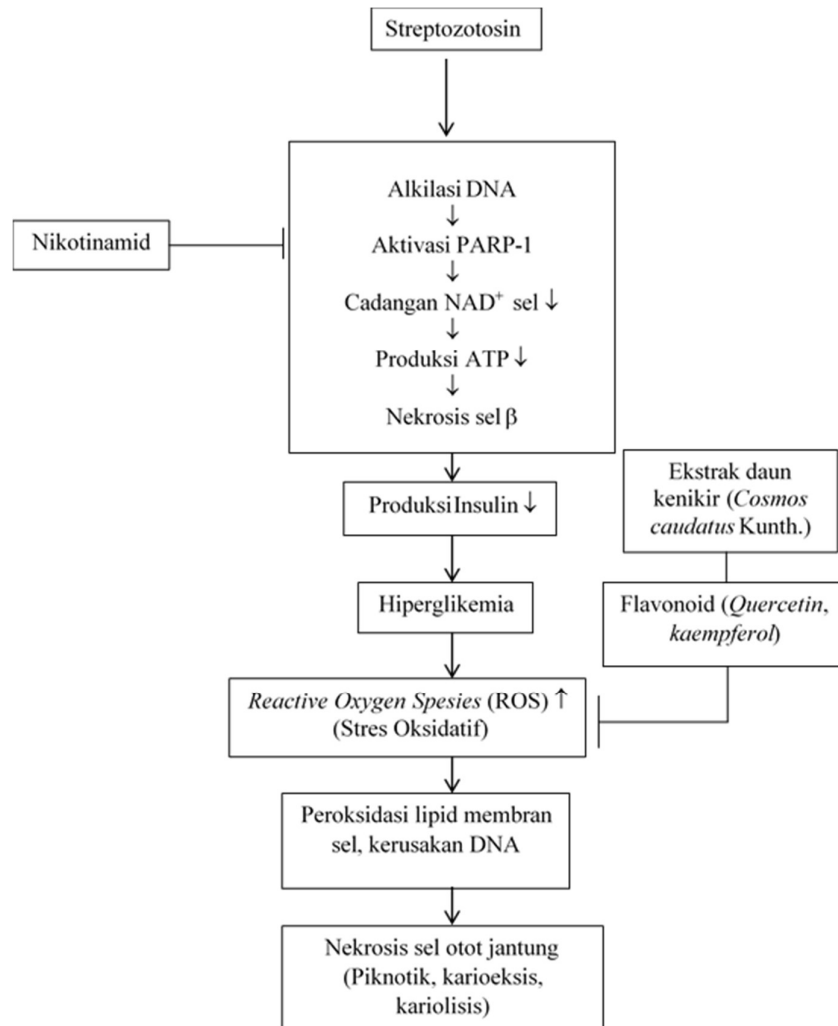
#### 5. Mekanisme Kerja Ekstrak Daun Kenikir dalam Mengurangi Kerusakan Otot Jantung pada Tikus model DM Tipe II

Streptozotosin dan nikotinamid yang diberikan pada tikus putih akan memicu terjadinya DM tipe II. Pada tikus putih DM akan terjadi hiperglikemia yang bila tidak terkendali maka akan menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif antara lain akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel, kerusakan DNA dan lebih lanjut akan menyebabkan terjadinya nekrosis (Sharma et al., 2012). Sel yang mengalami nekrosis antara lain akan memperlihatkan perubahan-perubahan pada inti sel seperti piknosis, karioreksis, dan kariolisis (Radu et al., 2012 dan Guido et al., 2017).

Ekstrak daun kenikir mengandung antioksidan flavonoid. Jenis flavonoid yang dominan pada ekstrak etanol daun kenikir adalah *quercetin* dan *kaempferol* (Andarwulan et al., 2010). Antioksidan ini bekerja dengan

cara mengikat ROS ( *ROS scavenger*) sehingga stres oksidatif menurun. Menurunnya stres oksidatif akan mengurangi kerusakan sel otot jantung (Frustaci et al. 2015).

## B. Kerangka Pemikiran



Keterangan :

→ Memicu  
 —| Menghambat

**Gambar 2.9.** Kerangka Pikir Penelitian



### C. Hipotesis

1. Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat mengurangi jumlah sel otot jantung yang mengalami kerusakan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.
2. Peningkatan dosis ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat meningkatkan pengaruh terhadap pengurangan jumlah sel otot jantung yang mengalami kerusakan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik.

##### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2018 sampai November 2018. Pembuatan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) bertempat di Laboratorium Farmasi UGM. Perlakuan hewan coba dan pengukuran kadar glukosa darah serta pengambilan organ jantung dilakukan di Laboratorium Pusat Pangan dan Gizi (PAU) UGM. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM dan pembacaan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi FK UNS.

##### **C. Subjek Penelitian**

###### **1. Populasi Penelitian**

Populasi hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih yang akan digunakan adalah tikus putih dengan kriteria inklusi: galur Wistar, berusia 2-3 bulan, jenis kelamin jantan dengan berat badan 200-250 gram. Adapun kriteria eksklusi meliputi tikus putih yang cacat fisik, tampak sakit, kadar glukosa darah puasa pada 3 hari sesudah induksi streptozotosin dan nikotinamid  $\leq 126$  mg/dL, serta tikus yang mati selama penelitian.

## 2. Sampel Penelitian

Menurut Charan dan Kantharia (2013) jumlah sampel untuk penelitian yang menggunakan hewan coba dapat menggunakan rumus:

$$E = \text{jumlah total hewan coba} - \text{jumlah kelompok}$$

$$= (\text{jumlah sampel} \times \text{jumlah kelompok}) - \text{jumlah kelompok}$$

dengan nilai E dipertahankan antara 10-20. Karena penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan, maka:

$$20 = 4x - 4$$

$$24 = 4x$$

$$x = 6$$

x: jumlah sampel tiap kelompok

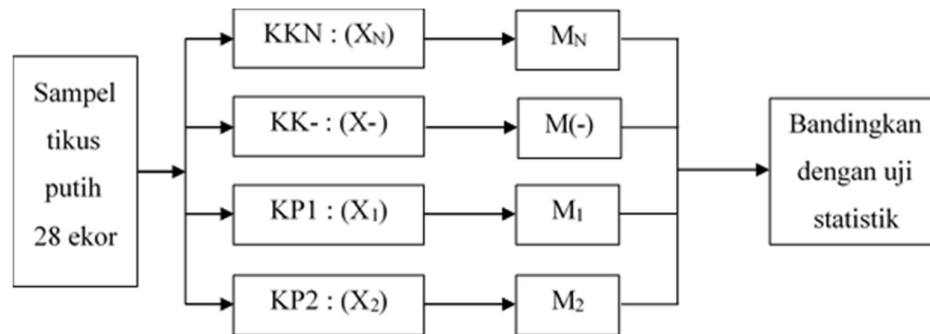
Pada penelitian ini jumlah sampel untuk tiap kelompok ditentukan sebanyak 6 ekor tikus ( $n \geq 6$ ), dan terdapat 4 kelompok tikus sehingga penelitian ini membutuhkan 24 tikus dari populasi yang ada.

## D. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian adalah *purposive sampling*. *Purposive sampling* merupakan pengambilan sampel berdasarkan kriteria atau ciri-ciri tertentu yang sudah diketahui sebelumnya.

## E. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design*. Dalam rancangan ini digunakan kelompok kontrol sebagai pembanding terhadap kelompok perlakuan, dan efek perlakuan dilihat dengan membandingkan hasil akhir sesudah perlakuan saja.



**Gambar 3.1** Skema rancangan penelitian

Keterangan:

KKN : Kelompok Kontrol Normal

KK- : Kelompok Kontrol Negatif

KP1 : Kelompok Perlakuan 1

KP2 : Kelompok Perlakuan 2

(X<sub>n</sub>) : Pemberian diet standar pada KKn

(X<sub>-</sub>) : Pemberian diet standar + induksi STZ-NA pada KK (-)

(X<sub>1</sub>) : Pemberian diet standar + induksi STZ-NA + ekstrak daun kenikir  
(*Cosmos caudatus* Kunth.) dosis 200 mg/kgBB

(X<sub>2</sub>) : Pemberian diet standar + induksi STZ-NA + ekstrak daun kenikir  
(*Cosmos caudatus* Kunth.) dosis 400 mg/kgBB

M<sub>N</sub> : Pengamatan sel otot jantung pada KKN

M<sub>-</sub> : Pengamatan sel otot jantung pada KK-

M<sub>1</sub> : Pengamatan sel otot jantung pada KP1

M<sub>2</sub> : Pengamatan sel otot jantung pada KP2

## F. Variabel Penelitian

### 1. Variabel bebas:

Ekstrak etanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

### 2. Variabel terikat:

Histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 3. Variabel perancu

#### a. Variabel luar yang dapat dikendalikan

Galur hewan coba, jenis kelamin, usia, berat badan, jenis makanan

#### b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan

Kondisi psikologis hewan coba, sensitivitas hewan coba, gambaran histopatologi otot jantung hewan coba sebelum perlakuan.

## G. Definisi Operasional Variabel

### 1. Variabel bebas: Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

#### a. Definisi konsep

Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dibuat dari daun kenikir dengan metode maserasi, dan menggunakan pelarut etanol 80%. Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) diperoleh dari daerah Sleman Yogyakarta, dan dibuat dalam bentuk kering (simplicia) di Merapi Farma Yogyakarta. Teknik maserasi dilakukan di Laboratorium Farmasi UGM Yogyakarta.

Ekstrak daun kenikir kemudian diberikan secara per oral menggunakan sonde lambung dengan dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB selama 28 hari.

b. Alat ukur: Sput

c. Skala: Ordinal

2. Variabel terikat: Histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*)

a. Definisi konsep

Penelitian ini menggunakan variabel terikat yaitu gambaran histopatologi otot jantung tikus putih model diabetes melitus tipe II yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.). Preparat otot jantung diambil dari ventrikel kiri tikus dengan potongan melintang agar inti dari otot jantung dapat terlihat dengan jelas. Preparat kemudian diwarnai dengan hematoksin-eosin (HE). Setelah itu, diamati berapa banyak sel yang normal pada 1 lapang pandang yang paling jelas pada tiap irisan pada perbesaran 1000 kali. Sel yang normal merupakan sel yang tidak mengalami kematian yang ditandai dengan piknosis, karioreksis, dan kariolisis.

b. Alat ukur: Mikroskop cahaya

c. Skala: Rasio

3. Variabel luar

Variabel luar terdiri dari variabel yang dapat dikendalikan dan yang tidak dapat dikendalikan.

a. Variabel luar yang dapat dikendalikan

1) Galur

2) Usia

- 3) Berat badan
- 4) Jenis kelamin
- 5) Kondisi kesehatan tikus
- 6) Jenis makanan
- b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan
  - 1) Kondisi psikologis.
  - 2) Sensitivitas tikus putih.
  - 3) Gambaran histopatologi awal otot jantung tikus

## H. Instrumen dan Bahan Penelitian

### 1. Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa:

- a. Kandang tikus 4 buah masing-masing untuk 6 ekor tikus
- b. Timbangan duduk dan timbangan neraca
- c. Alat bedah hewan percobaan (*scalpel*, pinset, gunting, jarum, dan meja lilin)
- d. Alat-alat untuk pembuatan preparat histologi dengan pengecatan Hematoksilin dan Eosin (HE) yaitu *object glass*, *deck glass*, dan rak pengecatan
- e. Sonde lambung
- f. Mikroskop cahaya
- g. Kamera mikroskop Optilab
- h. Gelas ukur dan pengaduk.

## 2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- a. Makanan hewan percobaan (*pellet*)
- b. Streptozotosin
- c. Nikotinamid
- d. Larutan CMC 0,03%
- e. Ekstrak etanolik daun kenikir
- f. Bahan untuk membuat preparat histologi dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) yaitu xylol, parafin, alkohol 100%, alkohol 95%, alkohol 75%, hematoksilin, dan eosin.

### I. Prosedur Penelitian

#### 1. Pembuatan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) didapat dari Merapi Farma Yogyakarta dalam bentuk simplisia. Simplisia diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% menggunakan teknik maserasi. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

#### 2. Penentuan dosis ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

Penentuan dosis ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) pada penelitian ini didasarkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Perumal et al. (2014). Perumal et al. menggunakan ekstrak etanol (80%) daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) untuk menurunkan kadar kolesterol, trigliserid, dan glukosa darah pada tikus putih yang dibuat



model hiperlipidemia. Dosis ekstrak yang digunakan adalah 200 mg/kg BB tikus putih dan diberikan selama 4 minggu melalui sonde lambung. Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan kadar kolesterol, trigliserid, dan glukosa darah. Berdasarkan penelitian Perumal et al. tersebut, kemudian peneliti akan menggunakan ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB untuk terapi pada tikus putih model DM. Ekstrak akan diberikan secara peroral dengan sonde lambung selama 28 hari berturut-turut.

### 3. Dosis Streptozotosin dan Nikotinamid

Percobaan ini menggunakan streptozotosin dengan dosis 60 mg/kg BB tikus putih diinjeksikan secara intraperitoneal pada 15 menit setelah injeksi nikotinamid 120 mg/kg BB tikus putih secara intraperitoneal. Dosis dan cara pemberian streptozotosin dan nikotinamid mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Ghasemi et al (2014)

### 4. Adaptasi hewan coba

Tikus diadaptasikan selama 7 hari di Pusat Antar Universitas, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

### 5. Pengelompokan subjek

Subjek berupa tikus dikelompokkan menjadi empat kelompok secara random dan masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus. Pengelompokan subjek sebagai berikut:

- a. KKN = Kelompok kontrol normal hanya diberi diet standar selama percobaan.

- b. KK- = Kelompok kontrol negatif diberi diet standar, induksi STZ-NA pada hari ke-8, tanpa diberi ekstrak daun kenikir.
- c. KP1 = Kelompok perlakuan pertama diberi diet standar, induksi STZ-NA pada pada hari ke-8 dan diberi ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan dosis 200 mg/kg BB pada hari ke-12 sampai hari ke-39 (28 hari) dengan sonde lambung.
- d. KP2 = Kelompok perlakuan kedua diberi diet standar, induksi STZ-NA pada hari ke-8 dan diberi ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan dosis 400 mg/kg BB pada hari ke-12 sampai hari ke-39 (28 hari) dengan sonde lambung.

Setelah tikus dikelompokkan, peneliti melakukan penimbangan berat badan tikus untuk menentukan dosis dan dilakukan perlakuan.

#### 6. Pengukuran kadar glukosa darah tikus putih

Pengukuran kadar glukosa darah tikus putih dilakukan sebanyak 3 kali. Pengukuran pertama dilakukan pada hari ke-8 tepat sebelum induksi DM dengan tujuan untuk memastikan bahwa tikus yang akan diinduksi streptozotosin dan nikotinamid mempunyai kadar glukosa darah yang normal. Pengukuran kedua dilakukan pada hari ke-11 sejak dimulainya adaptasi tikus dengan tujuan untuk memastikan bahwa induksi STZ-NA yang diberikan telah berhasil membuat tikus putih model DM. Pengukuran ketiga dilakukan pada hari ke-40 setelah perlakuan selesai diberikan dengan tujuan untuk memastikan bahwa sampai akhir penelitian, model DM pada tikus putih masih tetap dipertahankan.

Sebelum diambil darahnya, tikus dipuasakan selama 12 jam. Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa tikus dilakukan dengan cara mengambil darah tikus dari vena retroorbital kemudian diukur kadar glukosa darah puasanya. Tikus dikatakan mengalami DM apabila kadar glukosa darah puasa >126 mg/dL (Ghasemi et al., 2014 ; Aboonabi et al., 2014).

7. Induksi model DM dengan Streptozotosin-Nikotinamid (STZ-NA)

Induksi STZ-NA diberikan hari ke-8 setelah adaptasi. Dosis streptozotosin yang diberikan adalah 60 mg/kgBB secara intraperitoneal. Nikotinamid diberikan 15 menit sebelum injeksi streptozotosin sebesar 120 mg/kgBB secara intraperitoneal. Pada hari ke-11 glukosa darah tikus putih di periksa (Aboonabi et al., 2014).

8. Pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang diberikan pada penelitian ini adalah ekstrak yang dibuat dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut etanol 80%. Ekstrak dengan dosis 200 mg/kg BB diberikan pada tikus putih KP1 dan dosis 400 mg/kg BB diberikan pada tikus putih KP2. Ekstrak daun kenikir diberikan kepada tikus menggunakan sonde lambung pada hari ke-12 percobaan setelah induksi streptozotosin-nikotinamid. Ekstrak etanol daun kenikir ini kurang larut dalam air sehingga dalam pemberiannya disuspensikan terlebih dahulu ke dalam larutan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 0,03%. Pemberian ekstrak dilakukan selama 28 hari berturut-turut. Waktu pemberian ekstrak

daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) pada penelitian ini didasarkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Perumal *et al.* (2014). Dosis ekstrak yang digunakan adalah 200 mg/kg BB tikus putih dan diberikan secara peroral dengan sonde lambung selama 4 minggu (28 hari). Hasil penelitian menunjukkan penurunan kadar kolesterol, trigliserida, dan glukosa darah yang signifikan.

#### 9. Terminasi hewan coba

Pada hari ke-40 tikus akan diterminasi dengan pemberian zat anestetik (kloroform) secara inhalasi untuk diambil jantungnya dan kemudian dibuat preparat otot jantung dengan pengecatan Hematoksilin dan Eosin (HE).

#### 10. Pembuatan preparat histologis

Seluruh tikus yang telah diberi percobaan diterminasi untuk selanjutnya dilakukan diseksi organ dalam. Jantung diambil kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi buffer formalin 10% dengan volume minimal 5 kali volume jaringan.

Metode pembuatan preparat meliputi:

##### a. Fiksasi

Fiksasi diperlukan untuk mempertahankan elemen-elemen sel atau jaringan agar tetap pada tempatnya dan tidak mengalami perubahan bentuk maupun ukuran. Fiksasi juga membantu sel yang diamati akan terlihat sebagaimana kondisi awalnya. Fiksasi dilakukan dengan menggunakan larutan buffer formalin 10% (1-3 jam)

#### b. Dehidrasi

Dehidrasi berfungsi untuk membersihkan preparat dari larutan fiksatif dan menarik molekul air dari dalam jaringan. Dehidrasi juga membuat seluruh ruang-ruang antar sel dalam jaringan dapat diisi dengan molekul parafin. Dehidrasi dilakukan dengan menggunakan beberapa larutan alkohol bertingkat dengan uraian sebagai berikut:

1. Alkohol 50%-70% (12 jam)
2. Alkohol 95% (1 jam)
3. Alkohol Absolut (1 jam)
4. Alkohol Absolut (1 jam)
5. Alkohol Absolut (1 jam)

#### c. *Clearing*

*Clearing* dilakukan dengan menggunakan larutan *xylol*. Perendaman pada larutan *xylol* akan membersihkan preparat dari alkohol dan dehidran lain. Larutan *xylol* diberikan sebanyak tiga kali dengan uraian sebagai berikut:

1. *Xylol* 1 (30 menit)
2. *Xylol* 2 (1 jam)
3. *Xylol* 3 (1 jam)

#### d. Impregnasi

Impregnasi adalah perendaman spesimen dalam parafin cair selama 12 jam pada inkubator suhu 59 °C.

e. Pembuatan blok parafin / *Blocking*

Organ jantung yang telah diimpregnasi kemudian ditempatkan pada wadah cetakan dengan arah longitudinal, dan selanjutnya dituangi dengan parafin cair sehingga organ pankreas terbenam di tengah-tengah cetakan tersebut. Bila cetakan ini telah kering maka terbentuk blok parafin yang di dalamnya mengandung organ jantung yang siap untuk dilakukan pengirisan.

f. Pengirisan

Blok parafin dipotong dengan orientasi organ jantung melintang. Potongan diambil menggunakan mikrotom sebanyak 4 irisan dengan ketebalan tiap irisan 4  $\mu\text{m}$ , serta jarak antar irisan sejauh 5 irisan.

g. Pengecatan preparat

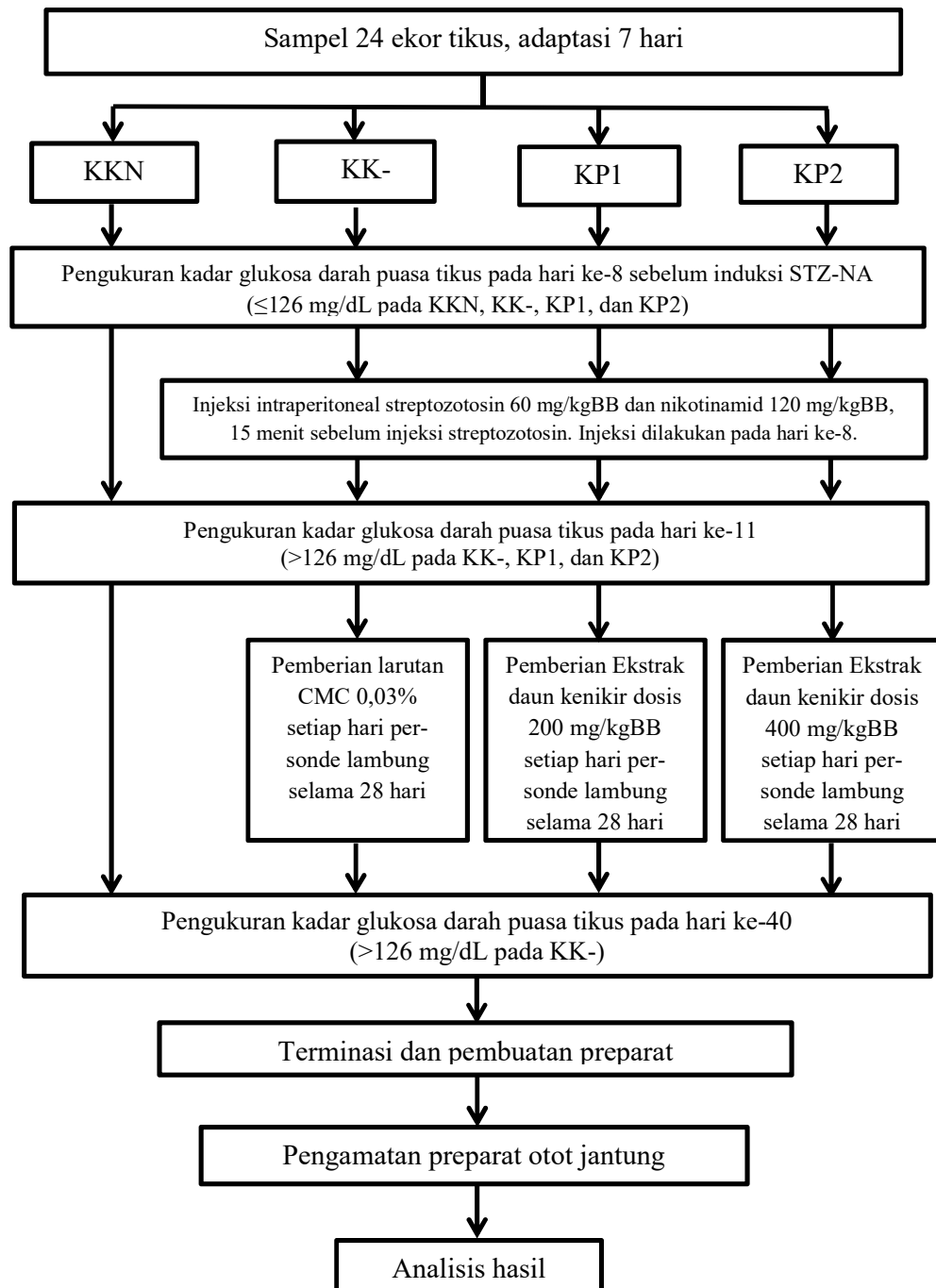
Preparat yang telah dipotong dideparafinisasi 4 x 5 menit dengan *xylol*, lalu dicuci dengan alkohol 4 x 5 menit dengan kadar berurutan dari tinggi ke rendah (95 %, 80%, 70%, 50%). Preparat dicuci dengan air mengalir selama 5 menit, lalu dimasukkan ke dalam hematosilin haris 10 menit, dicuci dengan air mengalir 2 menit, dimasukkan ke dalam eosin 30 detik, dicuci dengan air mengalir 2 menit, dicelupkan dua kali pada alkohol 50%, lalu dikeringkan dengan dianginkan. Tahap terakhir dilakukan *mounting* kemudian ditutup dengan *cover glass* dan diberi identitas.

## 11. Pengamatan hasil

Pengamatan preparat dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan bantuan kamera Optilab. Preparat otot jantung diamati dengan perbesaran awal 400 kali untuk menemukan lapang pandang yang paling jelas, kemudian dengan perbesaran 1000 kali untuk melihat inti sel otot jantung. Kemudian dihitung jumlah sel yang tidak mengalami kerusakan (piknosis, karioreksis, kariolisis) sebanyak 4 lapang pandang, dengan 1 lapang pandang tiap irisan (Tursinawati et al., 2017). Setelah itu dihitung persentase sel yang normal dengan rumus:

$$\text{Persentase sel normal} = \frac{\text{Jumlah sel yang normal}}{\text{Jumlah sel yang diamati}} \times 100\%$$

## J. Alur Penelitian



**Gambar 3.2** Alur Penelitian



#### K. Teknik Analisis Data Statistik

Data yang diperoleh melalui penelitian ini, yaitu persentase otot jantung yang normal pada 4 kelompok tikus yang mempunyai skala ukur rasio. Dengan demikian untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan *mean* di antara 4 kelompok tersebut, data dianalisis dengan uji *One Way Anova*. Bila hasil analisis *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna, selanjutnya data dianalisis dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui di kelompok manakah terdapat perbedaan yang bermakna. Derajat kemaknaan yang digunakan adalah  $\alpha=0,05$  (perbedaan bermakna bila  $p < 0,05$ ).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### A. Data Hasil Penelitian

##### 1. Data Kadar Glukosa Darah Tikus

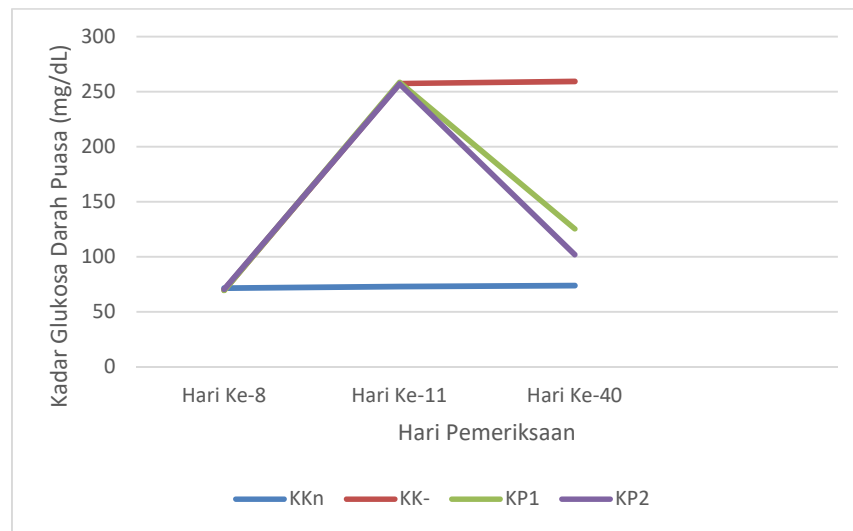
Pengukuran kadar glukosa darah puasa tikus putih sebanyak 3 kali. Pengukuran pertama dilakukan pada hari ke-8 tepat sebelum induksi streptozotosin dan nikotinamid dengan tujuan untuk memastikan bahwa tikus yang akan diinduksi tidak menderita DM. Pada hari ke-11 dilakukan pengukuran kembali kadar glukosa darah puasa tikus putih untuk mengkonfirmasi keberhasilan induksi DM pada tikus putih. Pada hari ke-40 dilakukan pengukuran kembali kadar glukosa darah untuk memastikan keadaan DM dipertahankan hingga akhir penelitian.

Rerata kadar glukosa darah puasa setiap kelompok ditampilkan pada tabel 4.1. dan gambar 4.1.

**Tabel 4.1** Rerata Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) pada Masing-Masing Kelompok

Kelompok	Rerata Kadar Glukosa Darah Puasa $\pm$ Standar Deviasi (mg/dL)		
	Hari ke-8	Hari Ke-11	Hari Ke-40
KKN	71,45 $\pm$ 5,26	72,83 $\pm$ 5,11	73,76 $\pm$ 5,09
KK-	69,68 $\pm$ 4,73	257,36 $\pm$ 4,37	259,21 $\pm$ 4,57
KP1	69,34 $\pm$ 3,47	258,29 $\pm$ 2,83	125,27 $\pm$ 3,97
KP2	70,42 $\pm$ 4,06	256,92 $\pm$ 2,35	101,76 $\pm$ 4,21

Berdasarkan data hasil penelitian pada tabel 4.1., kemudian dibuat grafik yang menggambarkan kadar glukosa darah puasa pada masing-masing waktu pengukurannya. Grafik ditampilkan pada gambar 4.1.



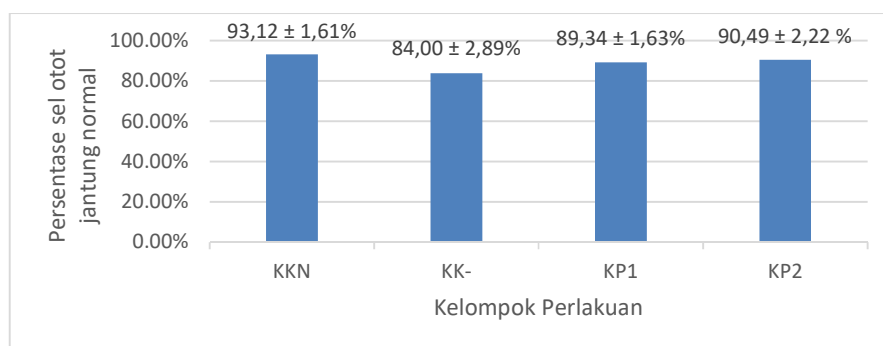
**Gambar 4.1** Grafik Rerata Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) pada Tiap Kelompok (dalam mg/dL). KKn: Kelompok Kontrol Normal, KK-: Kelompok Kontrol Negatif, KP1: Kelompok Perlakuan 1, KP2: Kelompok Perlakuan 2

Hasil pengukuran kadar glukosa darah yang dapat dilihat pada tabel 4.1 dan gambar 4.1, menunjukkan bahwa rerata kadar glukosa darah puasa sebelum induksi streptozotosin-nikotinamid pada hari ke-8 pada tiap kelompok tidak jauh berbeda dan dalam batas normal ( $<126$  mg/dL). Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa berikutnya dilakukan pada hari ke-11 sejak dimulainya adaptasi tikus. Hasil tersebut menunjukkan kenaikan kadar glukosa darah ( $>126$  mg/dl) pada kelompok yang diinduksi streptozotosin-nikotinamid yaitu KK-, KP1, dan KP2 sehingga dapat disimpulkan semua tikus dapat menjadi model diabetes melitus tipe II.

Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa yang ketiga dilakukan pada hari ke-40. Hasil pengukuran glukosa darah puasa pada hari ke-40 menunjukkan rerata kadar glukosa darah puasa pada KKN tidak menunjukkan kenaikan dibandingkan pengukuran pada hari ke-8 dan ke-11. Pada KK- yang tidak diberikan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), tidak terdapat penurunan rerata kadar glukosa darah puasa. Kelompok yang diberikan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), yaitu KP1 dan KP2 menunjukkan penurunan rerata kadar glukosa darah puasa. Hal ini menunjukkan ekstrak daun kenikir dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa pada DM.

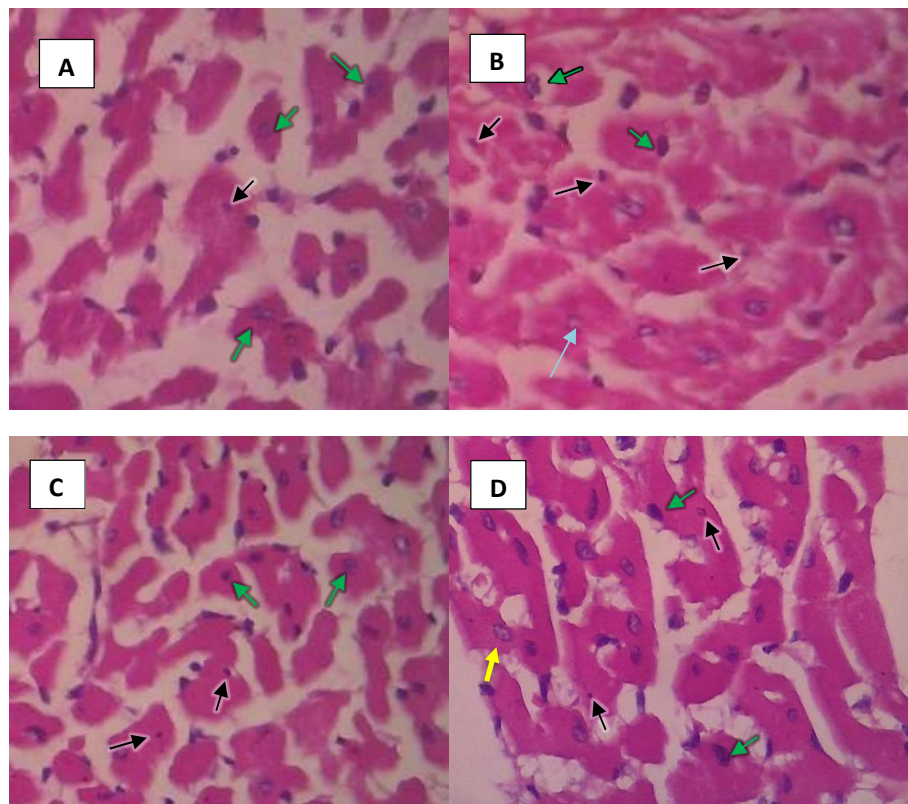
## 2. Data Persentase Sel Otot Jantung Normal Tikus Putih

Preparat otot jantung yang sudah dicat dengan Hematoksilin-Eosin (HE) kemudian diamati dengan mikroskop Setelah itu dihitung persentase sel otot jantung yang normal pada tiap lapang pandang yang hasilnya dapat dilihat pada gambar 4.2.



**Gambar 4.2.** Rerata Persentase Sel Otot Jantung Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) pada Tiap Kelompok. KKN: Kelompok Kontrol Normal, KK-: Kelompok Kontrol Negatif, KP1: Kelompok Perlakuan 1, KP2: Kelompok Perlakuan 2

Gambar 4.2 diatas menunjukkan data persentase sel otot jantung normal pada setiap kelompok perlakuan. Pada Kelompok Kontrol Negatif (KK-) didapatkan rata-rata persentase sel normal yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok lain. Kelompok Kontrol Normal (KKN) menunjukkan persentase sel normal yang paling banyak. Kelompok kontrol normal hanya diberi diet standar. Persentase sel normal terlihat sedikit meningkat dari Kelompok Perlakuan 1 (KP1) dan Kelompok Perlakuan 2 (KP2) dibandingkan KK-.



**Gambar 4.3** Preparat otot jantung pada masing-masing kelompok. (A) KKN, (B) KK-, (C) KP1, (D) KP2. Tanda kerusakan sel yang ada berupa piknosis (panah hitam), karioreksis (panah kuning), kariolisis (panah biru). Sel normal ditunjukkan dengan panah hijau. Pengecatan HE dan perbesaran 400x

## B. Analisis Data

Data dalam penelitian ini dianalisis dengan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) 25.00 for Windows. Uji statistik yang digunakan adalah *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Multiple Comparisons*. Syarat uji *One-Way ANOVA* adalah data berskala numerik, distribusi data normal, dan varians data sama. Distribusi data dianalisis dengan uji Normalitas *Shapiro-Wilk*.

**Tabel 4.2** Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* Data Persentase Sel Otot Jantung Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kelompok	N	Sig. (p)
KKN	24	0,368
KK-	24	0,893
KP1	24	0,965
KP2	24	0,697

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki nilai p di atas derajat kemaknaan yang telah ditentukan yakni  $p > 0,05$  sehingga seluruh data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal. Karena data terdistribusi normal maka selanjutnya dilakukan uji varian data menggunakan uji *Levene*.

Berdasarkan hasil uji varian data *Levene* dapat diketahui signifikansi sebesar 0,063. Karena signifikansi bernilai lebih dari 0,05 maka dapat diasumsikan bahwa seluruh kelompok data memiliki varian yang homogen. Karena sampel berasal dari kelompok yang independen, data homogen, dan

data terdistribusi normal, maka selanjutnya akan dilakukan uji *One-Way ANOVA*.

Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa signifikansi bernilai 0,000. Karena signifikansi bernilai  $< 0,05$  berarti terdapat perbedaan yang signifikan diantara empat kelompok perlakuan. Data selanjutnya dianalisis dengan *Post Hoc Multiple Comparisons* berupa uji *Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan terletak diantara pasangan kelompok yang mana. Hasil uji *Post Hoc* disajikan pada tabel 4.3.

**Tabel 4.3** Hasil Uji *Post-Hoc Multiple Comparisons* Data Persentase Sel Otot Jantung Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Pasangan Kelompok	Sig. (p)	Interpretasi
KKN dan KK-	0.000	Signifikan
KKN dan KP1	0.000	Signifikan
KKN dan KP2	0.000	Signifikan
KK- dan KP1	0.000	Signifikan
KK- dan KP2	0.000	Signifikan
KP1 dan KP2	0.233	Tidak Signifikan

Hasil uji *Post Hoc Multiple Comparisons* dengan *Tukey HSD* menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara semua kelompok kecuali antara KP1 dengan KP2.

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

Pada penelitian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa tikus putih sebanyak tiga kali, yaitu pada hari ke-8 sebelum induksi streptozotosin-nikotinamid, pada hari ke-11 yaitu setelah induksi streptozotosin-nikotinamid, dan pada hari ke-40 yaitu setelah pemberian ekstrak daun kenikir. Dosis induksi yang digunakan pada penelitian ini mengikuti data dari Ghasemi (2014) dimana dosis injeksi intraperitoneal streptozotosin 60 mg/kgBB dan nikotinamid 120 mg/kgBB.

Pada pengukuran kadar glukosa darah puasa tikus putih pada hari ke-8 menunjukkan kadar glukosa darah puasa masing-masing kelompok masih dalam batas normal sebagaimana tertera pada tabel 4.1. Hal ini menunjukkan tidak ada tikus yang menderita DM sebelum dilakukan induksi.

Pengukuran kadar glukosa darah puasa tikus pada hari ke-11 bertujuan untuk mengkonfirmasi keberhasilan induksi tikus model diabetes melitus pada KK-, KP1, dan KP2. Pada pengukuran hari ke-11 diperoleh rata-rata kadar glukosa darah puasa pada ketiga kelompok tersebut >126 mg/dL sebagaimana tertera pada tabel 4.1., sehingga dapat disimpulkan induksi DM pada tikus berhasil.

Pengukuran kadar glukosa darah puasa yang ketiga dilakukan pada hari ke-40. Pengukuran hari ke-40 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kenikir dalam 2 dosis dapat menurunkan rata-rata kadar glukosa darah puasa tikus putih sehingga menjadi 125,27 mg/dL pada KP1 dan 101,76 mg/dL pada KP2. Pada KKN dan KK- tidak terdapat perubahan kadar glukosa darah puasa yang bermakna. Rata-



rata kadar glukosa darah puasa pada KKN tetap <126 mg/dL dan pada KK- tetap >126 mg/dL yang menunjukkan bahwa pembuatan tikus model diabetes melitus dengan induksi streptozotosin-nikotinamid berhasil dilakukan dan dipertahankan hingga akhir penelitian ini.

Streptozotocin dan nikotinamid yang digunakan dalam penelitian ini berhasil menginduksi kondisi DM tipe II pada tikus putih (*Rattus novergicus*). Streptozotocin merusak sel  $\beta$  dengan cara mengaktifkan enzim PARP-1 yang akan mengurangi stok NAD<sup>+</sup> di dalam sel  $\beta$  yang diperlukan dalam proses pembentukan ATP. Berkurangnya stok NAD<sup>+</sup> di dalam sel  $\beta$  akan mengganggu proses pembentukan ATP oleh sel  $\beta$  tersebut, kemudian menyebabkan kematian sel  $\beta$  pada pankreas. Nikotinamid melindungi sebagian sel  $\beta$  dari kerusakan akibat streptozotosin dengan cara menghambat enzim PARP-1 (Szkudelski, 2012). Rusaknya sebagian sel  $\beta$  pankreas ini mengakibatkan kondisi DM tipe II pada tikus putih.

Gambaran histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus novergicus*) model DM tipe II yang diamati pada penelitian ini adalah persentase jumlah sel otot jantung normal dalam satu lapang pandang. Pada hasil pengamatan didapatkan persentase sel otot jantung normal KKN sebesar 93,12%. Hal ini menunjukkan persentase sel otot jantung normal pada KKN paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Adanya sel otot jantung yang tidak normal pada KKN kemungkinan terjadi karena proses apoptosis atau adanya kerusakan pada sel otot jantung tikus sebelum induksi DM dilakukan. Apoptosis merupakan kematian sel terprogram yang secara fisiologis dialami oleh semua sel normal (Kumar et al., 2007). Persentase sel otot jantung normal pada KK- sebesar 84,0%. Hal ini

menunjukkan bahwa kondisi DM pada tikus putih menyebabkan kerusakan yang bermakna pada KK-. Kelompok Perlakuan 1 (KP1) dan Kelompok Perlakuan 2 (KP2) yang diberi ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) setelah induksi streptozotosin-nikotinamid menunjukkan persentase sel otot jantung normal yang lebih tinggi dibandingkan KK-. Hasil rata-rata persentase sel otot jantung normal pada KP1 sebesar 89,34% dan pada KP2 sebesar 90,49%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat berperan mengurangi jumlah sel otot jantung yang rusak pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Persentase sel otot jantung normal pada KK- lebih rendah dibandingkan dengan pada KKN. Berdasarkan uji *Post Hoc Multiple Comparisons*, KKN dan KK- memiliki perbedaan skor yang signifikan ( $p=0,000$ ) dimana hasil pada KK- sebesar 84,0% dan pada KKN sebesar 93,12 %. Selain itu rerata kadar glukosa darah puasa setelah selesai perlakuan juga mengalami peningkatan pada KK- (259,21 mg/dL) dibandingkan dengan KKN (73,76 mg/dL). Hal ini menunjukkan bahwa kondisi DM akibat induksi streptozotosin-nikotinamid menyebabkan kematian sel otot jantung tikus putih. Hal ini mendukung penelitian Guido et al. (2017) yang menunjukkan bahwa stres oksidatif berlebihan akibat diabetes melitus tipe II akan menghasilkan radikal bebas yang menyebabkan kematian sel otot jantung. Sel yang mengalami kematian antara lain memperlihatkan perubahan pada inti selnya. Inti sel yang mengalami kematian menunjukkan gambaran berupa piknosis, karioreksis, kariolisis (Guido et al., 2017).

Persentase sel otot jantung normal pada KP1 (89,34%) dan KP2 (90,49%) menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan KK- (84,0%). Pada uji *Post Hoc*

*Multiple Comparisons*, KK- memiliki perbedaan skor yang signifikan dengan kelompok KP1 ( $p=0,000$ ) dan KP2 ( $p=0,000$ ). Selain itu terdapat penurunan rerata kadar glukosa darah puasa setelah selesai perlakuan (hari ke-40) pada KP1 (125,27 mg/dL) dan KP2 (101,76 mg/dL) dibandingkan dengan KK- (259,21 mg/dL). Terjadinya peningkatan persentase sel otot jantung normal pada KP1 dan KP2 dibandingkan dengan KK- menunjukkan bahwa ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat berperan mengurangi kerusakan sel otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat diabetes melitus. Perbaikan persentase sel otot jantung normal dapat disebabkan oleh adanya efek antioksidan dari ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) karena mengandung zat flavonoid yaitu *quercetin* dan *kaempferol* (Andarwulan, 2010). Flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) akan mengikat radikal bebas dan menghambat pembentukan dari radikal bebas itu sendiri. Flavonoid menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara menghambat aktivitas enzim atau berikatan dengan zat yang berperan dalam pembentukan radikal bebas (Kumar dan Pandey, 2013).

Persentase sel otot jantung normal pada KP1 (89,34%) dan KP2 (90,49%) lebih rendah dibandingkan dengan persentase sel otot jantung normal pada KKN (93,12%). Pada uji *Post Hoc Multiple Comparisons* terdapat perbedaan skor yang signifikan antara KKN dan KP1 ( $p=0,000$ ) serta KKN dan KP2 ( $p=0,000$ ). Selain itu rata-rata kadar glukosa darah puasa setelah selesai perlakuan (hari ke-40) pada KP1 (125,27 mg/dL) dan KP2 (101,76 mg/dL) lebih tinggi dibandingkan dengan KKN (73,76 mg/dL). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan dosis 200mg/kgBB/hari pada KP1 dan

400mg/kgBB/hari pada KP2 selama 28 hari belum dapat memberikan hasil yang mendekati kondisi normal.

Rerata persentase sel otot jantung normal pada KP2 menunjukkan sedikit peningkatan dibandingkan dengan KP1. Namun, berdasarkan uji *Post Hoc Multiple Comparisons* pada KP1 dan KP2 didapatkan hasil yang tidak signifikan secara statistik ( $p=0,233$ ) dimana hasil pada KP1 sebesar (89,34%) dan pada KP2 sebesar (90,49%). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) sebesar 200mg/KgBB/hari belum optimal dalam mengurangi kerusakan sel otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data menggunakan uji statistik yang telah dilakukan, maka dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat mengurangi kerusakan sel otot jantung pada tikus putih model diabetes melitus tipe II. Adapun dosis yang digunakan dalam penelitian ini masih belum optimal karena dilihat dari penelitian ini yang menunjukkan belum ada perbaikan gambaran histopatologi sel otot jantung yang mendekati kondisi normal, dan perbedaan nilai antara KP1 dan KP2 yang tidak signifikan. Untuk mengetahui dosis yang optimum pada pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap persentase sel otot jantung normal tikus putih, diperlukan pemberian dosis ekstrak yang lebih bervariasi. Dengan demikian diperlukan adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimum dari ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dalam memperbaiki gambaran histopatologi otot jantung pada tikus model diabetes melitus

Pada penelitian ini masih terdapat beberapa keterbatasan:

1. Pada penelitian ini hanya menggunakan satu parameter yaitu gambaran morfologi inti sel otot jantung untuk menilai pengaruh dari ekstrak daun kenikir terhadap kerusakan sel otot jantung akibat diabetes melitus tipe II.
2. Kurang bervariasinya dosis dan lama pemberian dari ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth). Dosis dan lama pemberian ekstrak yang lebih bervariasi diharapkan dapat memberikan informasi tentang dosis optimum maupun dosis toksik ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dalam memperbaiki gambaran histopatologis otot jantung tikus putih.
3. Pada penelitian ini tidak dilakukan uji senyawa aktif berupa uji flavonoid untuk mengetahui secara pasti keberadaan dan kadar flavonoid dalam ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) sebelum ekstrak digunakan untuk perlakuan penelitian.

## **BAB VI**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Simpulan**

1. Pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat mengurangi kerusakan histopatologi sel otot jantung dengan meningkatkan jumlah sel otot jantung normal tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.
2. Peningkatan dosis ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dari 200mg/kgBB menjadi 400mg/kgBB belum dapat mengurangi kerusakan otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe II.

#### **B. Saran**

1. Dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis dan lama pemberian ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang lebih bervariasi untuk mengetahui dosis optimum dan dosis toksik ekstrak daun kenikir, serta pengaruhnya pada histopatologi otot jantung tikus putih model diabetes melitus tipe II.
2. Dilakukan uji identifikasi senyawa aktif pada ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) sebelum ekstrak digunakan untuk perlakuan penelitian untuk mengetahui keberadaan dan kadar flavonoid di dalam ekstrak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abas, F., Shaari, K., Lajis, N.H., Israf, D.A. and Kalsom, Y.U. (2003). Antioxidative and Radical Scavenging Properties of the Constituents Isolated from *Cosmos caudatus* Kunth. *Natural Product Sciences* 9:245–248.
- Akbarzadeh, A., Norouzian, D., Mehrabi, M.R., Jamshidi, S., Farhangi, A., Verdi, A.A., Mofidian, S.M.A., *et al.* (2007). Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22:60–64.
- American Diabetes Association (2011). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 34:S62–S69.
- American Heart Association (2016). *About Peripheral Artery Disease (PAD)* [Online]. Available at: [http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/VascularHealth/PeripheralArteryDisease/About-Peripheral-Artery-Disease-PAD\\_UCM\\_301301\\_Article.jsp](http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/VascularHealth/PeripheralArteryDisease/About-Peripheral-Artery-Disease-PAD_UCM_301301_Article.jsp) [Accessed: 5 May 2018].
- American Heart Association (2016). *Roles of Your Four Heart Valves* [Online]. Available at: [http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/More/HeartValveProblemsandDisease/Roles-of-Your-Four-Heart-Valves\\_UCM\\_450344\\_Article.jsp](http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/More/HeartValveProblemsandDisease/Roles-of-Your-Four-Heart-Valves_UCM_450344_Article.jsp) [Accessed: 7 May 2018].
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D.A., Bolling, B. and Wijaya, H. (2010). Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food chemistry* 121:1231–1235.
- Anderson, R.H., Razavi, R. and Taylor, A.M. (2004). Cardiac anatomy revisited. *Journal of Anatomy* 205:159–177.
- Azwanida, N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants* [Online] 04. Available at: <http://www.omicsgroup.org/journals/a-review-on-the-extraction-methods-use-in-medicinal-plants-principle-strength-and-limitation-2167-0412-1000196.php?aid=58448> [Accessed: 22 June 2018].
- Badole, S.L., Jangam, G.B., Chaudhari, S.M., Ghule, A.E. and Zanwar, A.A. (2014). L-Glutamine Supplementation Prevents the Development of Experimental Diabetic Cardiomyopathy in Streptozotocin-Nikotinamid Induced Diabetic Rats. *PLOS ONE* 9:e92697.
- Blanco, F.M. (1883). *Floras de Filipinas*. Manila.

- Borrás, C., Gambini, J., López-Grueso, R., Pallardó, F.V. and Viña, J. (2010). Direct antioxidant and protective effect of estradiol on isolated mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1802:205–211.
- Boudina, S. and Abel, E.D. (2010). Diabetic cardiomyopathy, causes and effects. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 11:31–39.
- Cazarolli, L.H., Zanatta, L., Alberton, E.H., Figueiredo, M.S.R.B., Folador, P., Damazio, R.G. and Silva, M.G.P. and F.R.M.B. (2008). *Flavonoids: Prospective Drug Candidates* [Online]. Available at: <http://www.eurekaselect.com/83497/article> [Accessed: 7 May 2018].
- CDC (2018). *Type 2 Diabetes | Basics | Diabetes | CDC* [Online]. Available at: <https://www.cdc.gov/diabetes/basics/type2.html> [Accessed: 4 May 2018].
- Charan, J. and Kantharia, N.D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics* 4:303–306.
- Cheng, S.-H., Barakatun-Nisak, M.Y., Anthony, J. and Ismail, A. (2015). Potential medicinal benefits of *Cosmos caudatus* (Ulam Raja): A scoping review. *Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences* 20:1000–1006.
- Dandamudi, S., Slusser, J., Mahoney, D.W., Redfield, M.M., Rodeheffer, R.J. and Chen, H.H. (2014). The Prevalence of Diabetic Cardiomyopathy. *Journal of cardiac failure* 20:304–309.
- Depkes RI (2013). *Infodatin-Diabetes.Pdf*. Available at: <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/infodatin-diabetes.pdf> [Accessed: 27 April 2018].
- Dwiyanti, W. (2014). Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* secara In Vitro. *LenteraBio* [Online] 3. Available at: <http://jurnalmahasiswa.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/7082> [Accessed: 7 May 2018].
- Fournier, A. (2000). Diagnosing Diabetes. *Journal of General Internal Medicine* 15:603–604.
- Fowler, M.J. (2008). Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Clinical Diabetes* 26:77–82.
- Garvey, W.T. and Hermayer, K.L. (1998). Clinical implications of the insulin resistance syndrome. *Clinical Cornerstone* 1:13–28.



- Gil, E.S. and Couto, R.O. (2013). Flavonoid electrochemistry: a review on the electroanalytical applications. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 23:542–558.
- Golbidi, S., Ebadi, S.A. and Laher, I. (2011). Antioxidants in the treatment of diabetes. *Current Diabetes Reviews* 7:106–125.
- Guido, M.C., Marques, A.F., Tavares, E.R., Tavares de Melo, M.D., Salemi, V.M.C. and Maranhão, R.C., 2017. The Effects of Diabetes Induction on the Rat Heart: Differences in Oxidative Stress, Inflammatory Cells, and Fibrosis between Subendocardial and Interstitial Myocardial Areas. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017:1-11
- J.E. Tarigan, T., Yunir, E., Subekti, I., Pramono, L. and Martina, D. (2015). Profile and analysis of diabetes chronic complications in Outpatient Diabetes Clinic of Cipto Mangunkusumo Hospital, Jakarta. *Medical Journal of Indonesia* 24:156.
- Johansen, J.S., Harris, A.K., Rychly, D.J. and Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology* 4:5.
- Kanadaswami, C., Lee, L.-T., Lee, P.-P.H., Hwang, J.-J., Ke, F.-C., Huang, Y.-T. and Lee, M.-T. (2005). The Antitumor Activities of Flavonoids. *In Vivo* 19:895–909.
- Katz, A.M. (1990). Cardiomyopathy of Overload. *New England Journal of Medicine* 322:100–110.
- Kautzky-Willer, A., Harreiter, J. and Pacini, G. (2016). Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews* 37:278–316.
- Kobayashi, S. and Liang, Q. (2015). Autophagy and mitophagy in diabetic cardiomyopathy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1852:252–261.
- Kumar, F., Fausto, N., Abas, A.K., Cotran, R.S. and Robbins, S.L. (2005). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th ed. Philadelphia: Saunders.
- Kumar, S. and Pandey, A.K. (2013). *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview* [Online]. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/162750/> [Accessed: 7 May 2018].
- Law, K.P. and Zhang, H. (2017). The pathogenesis and pathophysiology of gestational diabetes mellitus: Deductions from a three-part longitudinal metabolomics study in China. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 468:60–70.

- Lehman-McKeeman, L.D. (2013). Chapter 1 - Biochemical and Molecular Basis of Toxicity. In: Haschek, W. M., Rousseaux, C. G. and Wallig, M. A. (eds.) *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology (Third Edition)*. Boston: Academic Press, pp. 15–38. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124157590000017> [Accessed: 8 June 2018].
- Li, C.J., Zhang, Q.M., Li, M.Z., Zhang, J.Y., Yu, P. and Yu, D.M. (2009). Attenuation of myocardial apoptosis by alpha-lipoic acid through suppression of mitochondrial oxidative stress to reduce diabetic cardiomyopathy. *Chinese medical journal* 122:2580–2586.
- Liu, D.-G., Qiao, X.-B., Du, J., Yang, C.-Q., Fang, F., Ma, Z.-Z., Chen, M.-L., *et al.* (2007). [Pathologic study of diabetic cardiomyopathy]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi = Chinese Journal of Pathology* 36:801–804.
- Martin, L.J. (2016). *Aging Changes in the Heart and Blood Vessels* [Online]. Available at: [http://printer-friendly.adam.com/content.aspx?productId=117&pid=1&gid=004006&c\\_custid=815](http://printer-friendly.adam.com/content.aspx?productId=117&pid=1&gid=004006&c_custid=815) [Accessed: 19 June 2018].
- McNaught, A.D. and Wilkinson, A. (2014). *IUPAC Gold Book - Flavonoids (Isoflavonoids and Neoflavonoids)* [Online]. Available at: <http://goldbook.iupac.org/html/F/F02424.html> [Accessed: 7 May 2018].
- Miki, T., Yuda, S., Kouzu, H. and Miura, T. (2013). Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and clinical features. *Heart Failure Reviews* 18:149–166.
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (2014). *What Is Diabetes? | NIDDK* [Online]. Available at: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/what-is-diabetes> [Accessed: 4 May 2018].
- Pebriana, R.B., Wardhani, B.W.K., Widayanti, E., Wijayanti, N.L.S., Wijayanti, T.R. and Riyanto, S. (2008). Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara. :6.
- Perumal, V., Hamid, A.A., Ismail, A., Saari, K., Abas, F., Ismail, I.S., Maulidiani, *et al.* (2014). Effect of cosmos caudatus kunth leaves on the lipid profile of a hyperlipidemia-induced animal model. *Journal of Food Chemistry and Nutrition* 2:43–51.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products* 63:1035–1042.
- Radovits, T., Korkmaz, S., Mátyás, C., Oláh, A., Németh, B.T., Páli, S., Hirschberg, K., *et al.* (2015). *An Altered Pattern of Myocardial Histopathological and Molecular Changes Underlies the Different Characteristics of Type-1 and*

- Type-2 Diabetic Cardiac Dysfunction* [Online]. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2015/728741/> [Accessed: 5 April 2018].
- Radu, R.I., Bold, A., Pop, O.T., Mălăescu, D.G., Gheorghisor, I. and Mogoantă, L. (2012). Histological and immunohistochemical changes of the myocardium in dilated cardiomyopathy. *Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine De Morphologie Et Embryologie* 53:269–275.
- Sarmoko and Sulistyorini, E. (2010). *Kenikir (Cosmos Caudatus Kunth.)* [Online]. Available at: [http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page\\_id=101](http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=101) [Accessed: 7 May 2018].
- Sengupta, P. (2013). The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *International journal of preventive medicine* 4:624–30.
- Seth, P., Kaur, H. and Kaur, M. (2015). Clinical Profile of Diabetic Ketoacidosis: A Prospective Study in a Tertiary Care Hospital. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR* 9:OC01–OC04.
- Seyedreihani, S.F., Tan, T.-C., Alkarkhi, A.F.M. and Easa, A.M. (2017). Total phenolic content and antioxidant activity of Ulam raja (*Cosmos caudatus*) and quantification of its selected marker compounds: Effect of extraction. *International Journal of Food Properties* 20:260–270.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. (2012). *Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions* [Online]. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/jb/2012/217037/> [Accessed: 31 May 2018].
- Shrivastava, S.R., Shrivastava, P.S. and Ramasamy, J. (2013). Role of self-care in management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 12:14.
- Soelistijo, S.A., Novida, H., Rudijanto, A. and Soewondo, P. (2015). *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe II di Indonesia*. PB. PERKENI. Available at: <http://pbperkeni.or.id/doc/konsensus.pdf> [Accessed: 5 May 2018].
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotosin-nikotinamid-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)* 237:481–490.
- Tursinawati, Y., Yazid, N. and Purnawati, F.W. (2017). Gambaran Histopatologi Ventrikel Kiri Tikus yang Diberi Paparan Rokok Elektrik dan Konvensional. :7.
- Volpe, J.K. and Makaryus, A.N. (2018). Anatomy, Chest, Heart and Pericardial Cavity. [Online]. Available at: </books/NBK482452/> [Accessed: 7 May 2018].

- Wang, Z., Yuexin, Y., Xiang, X., Zhu, Y., Men, J. and He, M. (2010). Estimation of the normal range of blood glucose in rats. *Wei sheng yan jiu = Journal of hygiene research* 39:133–7, 142.
- Wang, Z.V. and Hill, J.A. (2015). Diabetic Cardiomyopathy: Catabolism Driving Metabolism. *Circulation* 131:771–773.
- WHO (2014). *WHO | About Diabetes* [Online]. Available at: [https://web.archive.org/web/20140331094533/http://www.who.int/diabetes/action\\_online/basics/en/](https://web.archive.org/web/20140331094533/http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/en/) [Accessed: 4 May 2018].
- Zatz, R. and Brenner, B.M. (1986). Pathogenesis of diabetic microangiopathy. The hemodynamic view. *The American Journal of Medicine* 80:443–453.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Surat Kelaikan Etik (*Ethical Clearance*)

 **HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE**  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
**(HREC/ KEPK)**  
**Faculty of Medicine Universitas Sebelas Maret**  
**Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret**

---

**ETHICAL CLEARANCE**  
**KELAIKAN ETIK**  
Nomor : 304/UN27.6/KEPK/2018

*The Health Research Ethics Committee of Faculty of Medicine Universitas Sebelas Maret*  
Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

*after reviewing the research protocol, herewith to certify*  
setelah menilai dokumen protokol penelitian yang diajukan, dengan ini menyatakan

*that the research protocol titled:*  
bahwa protokol penelitian dengan judul :

Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir ( *Cosmos Caudatus* Kunth.) terhadap Histopatologi Otot Jantung pada Tikus Putih ( *Rattus Norvegicus* ) Model Diabetes Melitus Tipe II.

Protocol ID : 01/18/10/314  
Nomor Protokol



Principal Investigator : Taufik Ridwan Hadi Kusuma  
Peneliti Utama : NIM. G0015222

is Ethically Approved.  
dinyatakan Laik etik.

Issued on : 24 Oktober 2018

  
Ketua  
Drs. Nugraha Susilawati, dr., M.Med., Ph.D  
NIP. 19801103 200604 2 001

## Lampiran 2. Surat Keterangan Justifikasi Simplisia



**SURAT KETERANGAN**


Kami yang bertanda tangan di bawah ini, menerangkan bahwa bahan yang diambil dari  
CV. Merapi Farma Herbal, Adalah benar simplisia dari tanaman :

Nama Tanaman : Kenikir (*cosmos caudatus K.*)  
Bahan yang Diambil : Daun  
Daerah asal : Kalasan, Daerah Istimewa Yogyakarta

Demikian surat keterangan ini kami buat sesuai dengan sebenarnya, semoga dapat  
digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 28 Juli 2018

Management,



**Supartini**

**MERAPI FARMA HERBAL**  
*Pembibitan, Penjualan Tanaman Obat, Outlet Jamu dan Wisata Agro*  
Jl. Kaliurang Km.21.5 Hargobinangun, Pakem Sleman Yogyakarta Telp.0274-896111, Fax: 0274-4478639  
**Outlet jamu**  
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 8.8, Kamdanan, Sariharjo, Ngaglik, Sleman Yogyakarta Telp: 0274-866928  
Website : [www.merapifarmaherbal.com](http://www.merapifarmaherbal.com) e-mail : [merapifarmaherbal@gmail.com](mailto:merapifarmaherbal@gmail.com)



### Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Daun Kenikir Segar



Pembuatan Simplisia Daun Kenikir



Proses Ekstraksi Daun Kenikir  
Metode Maserasi



Kandang Tikus



Pemberian Ekstrak Daun Kenikir  
Pada Tikus Per-sonde Lambung



Pengambilan Darah Pada Tikus  
Melalui Vena Retroorbital



Proses Terminasi Tikus



Proses Pembedahan Tikus



Pewadahan dan *Labelling* Organ



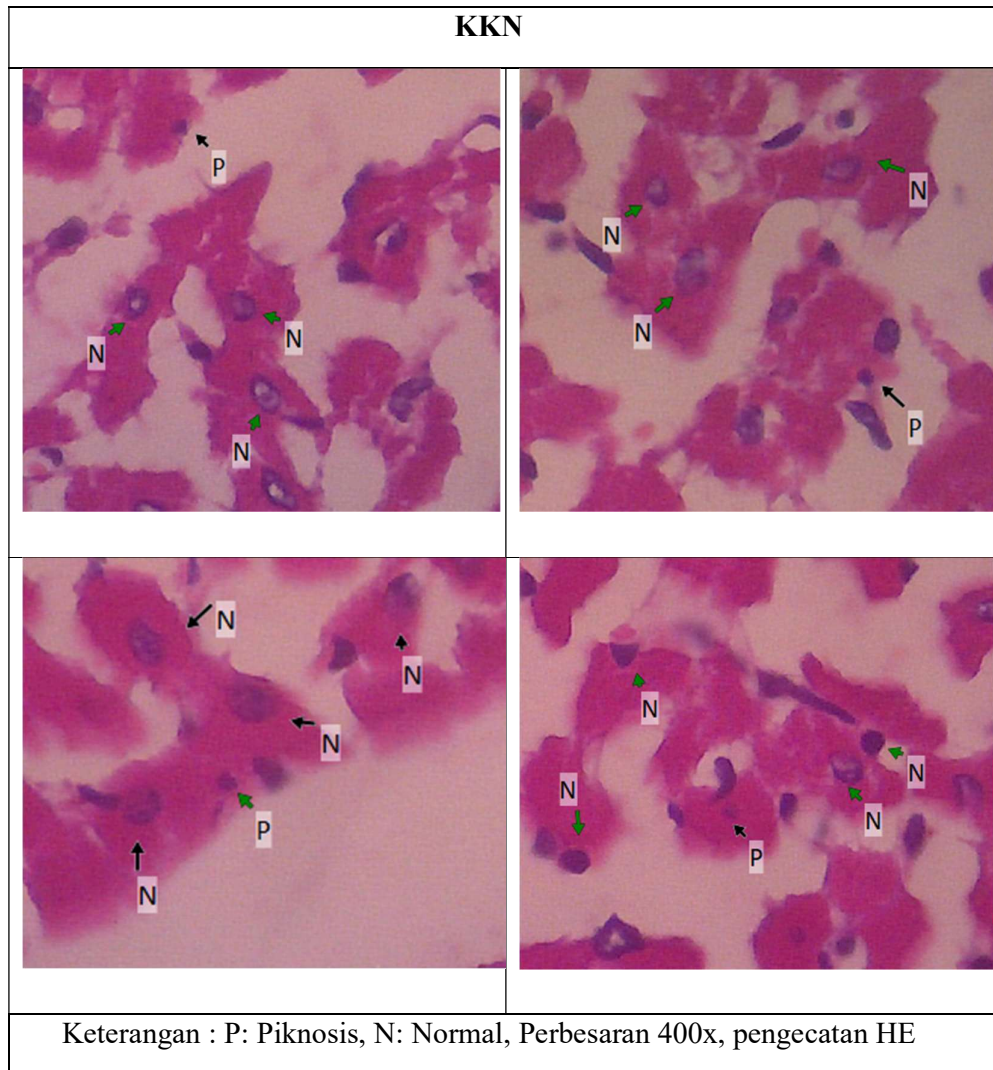
Proses Pembuatan Preparat Oleh  
Laboran Bagian Patologi Anatomi  
FK UGM

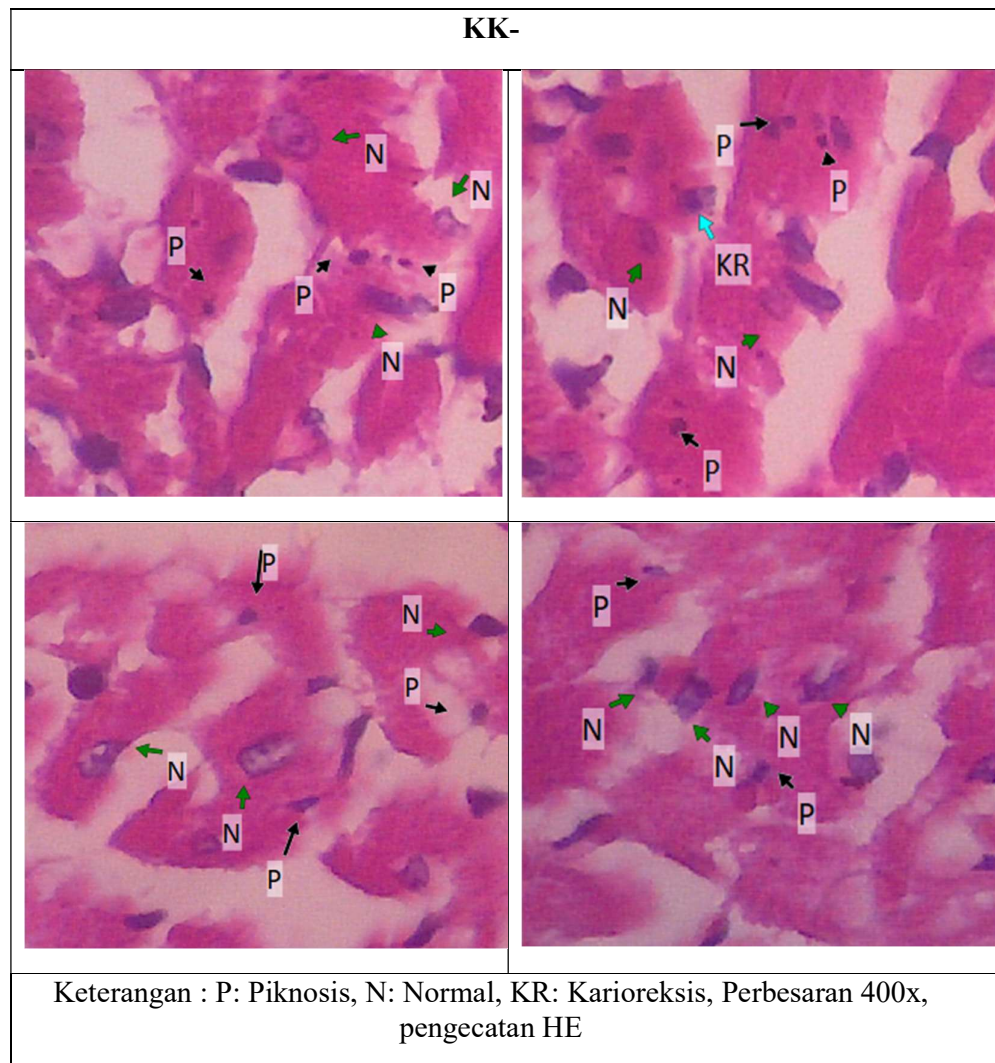


**Lampiran 4. Tabel Glukosa Darah Puasa Tikus Tiap Kelompok Perlakuan**

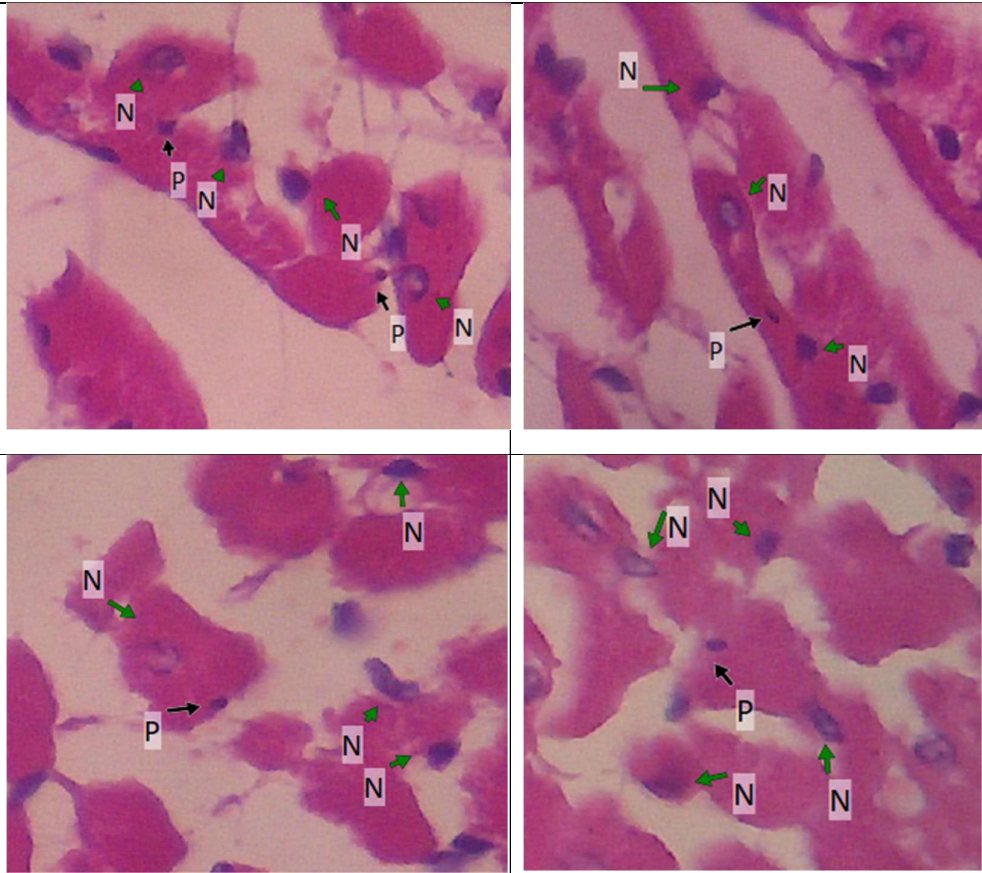
Kode	Hari ke-8		Hari ke-11		Hari ke-40	
	Glukosa		Glukosa		Glukosa	
	Abs	mg/dL	Abs	mg/dL	Abs	mg/dL
KKN.1	0,202	68,94	0,265	70,48	0,198	72,00
KKN.2	0,197	67,24	0,263	69,95	0,192	69,82
KKN.3	0,232	79,18	0,302	80,32	0,222	80,73
KKN.4	0,195	66,55	0,255	67,82	0,190	69,09
KKN.5	0,225	76,79	0,294	78,19	0,219	79,64
KKN.6	0,205	69,97	0,264	70,21	0,196	71,27
KK-.1	0,195	66,65	0,955	253,99	0,702	255,27
KK-.2	0,213	72,70	0,967	257,18	0,712	258,91
KK-.3	0,228	77,82	0,985	261,97	0,725	263,64
KK-.4	0,193	65,87	0,987	262,50	0,730	265,45
KK-.5	0,194	66,21	0,945	251,33	0,698	253,82
KK-.6	0,202	68,94	0,967	257,18	0,710	258,18
KP1.1	0,197	67,24	0,960	255,32	0,347	126,18
KP1.2	0,217	74,06	0,987	262,50	0,329	119,64
KP1.3	0,215	73,38	0,970	257,98	0,350	127,27
KP1.4	0,193	65,87	0,981	260,90	0,361	131,27
KP1.5	0,198	67,58	0,963	256,12	0,338	122,91
KP1.6	0,199	67,92	0,966	256,91	0,342	124,36
KP2.1	0,201	68,60	0,980	260,64	0,287	104,36
KP2.2	0,197	67,24	0,962	255,85	0,290	105,45
KP2.3	0,204	69,62	0,958	254,79	0,265	96,36
KP2.4	0,220	75,09	0,974	259,04	0,277	100,73
KP2.5	0,194	66,21	0,960	255,32	0,292	106,18
KP2.6	0,222	75,77	0,962	255,85	0,268	97,45

**Lampiran 5. Gambaran Mikroskopis Otot Jantung Tiap Kelompok Perlakuan**





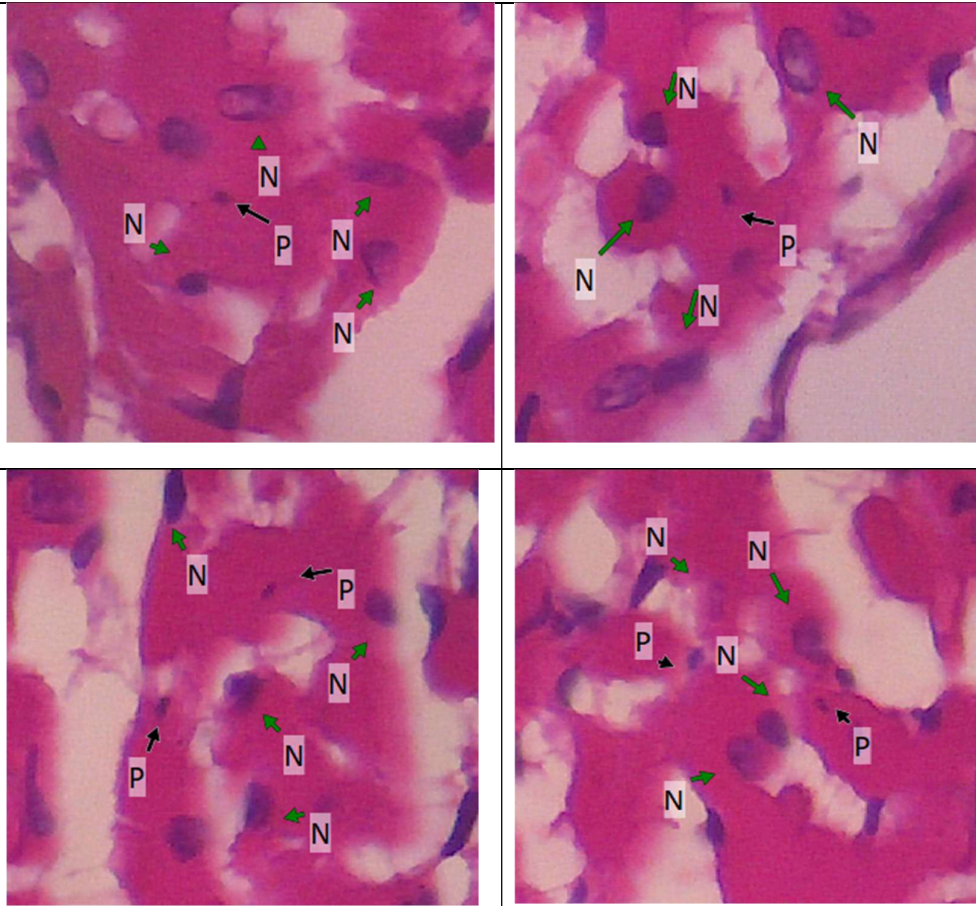
# KP1



Keterangan : P: Piknosis, N: Normal, Perbesaran 400x, pengecatan HE



# KP2



Keterangan : P: Piknosis, N: Normal, Perbesaran 400x, pengecatan HE

**Lampiran 6. Persentase Sel Otot Jantung Normal Tiap Hewan Coba**

Kelompok	Tikus	Sel Otot Jantung Normal (Persen)			
		Lapang Pandang			
KKN	1	90,41	92,85	94,11	94,73
	2	92,68	92,59	94,36	91,13
	3	94,87	93,75	92,40	92,53
	4	93,44	91,52	92,75	96,67
	5	93,75	96,82	93,22	91,93
	6	91,42	92,95	90,90	91,15
KK-	1	84,26	82,69	84,94	89,28
	2	88,37	86,59	87,23	87,64
	3	83,95	82,92	80,89	85,84
	4	80,89	78,35	80,70	82,88
	5	84,70	86,48	86,30	83,33
	6	83,33	84,33	80,72	79,41
KP1	1	91,34	90,29	90,26	85,93
	2	89,16	88,37	91,20	89,74
	3	90,32	89,28	90,90	92,92
	4	88,75	86,88	89,39	89,95
	5	87,67	89,56	87,32	89,65
	6	88,54	88,88	91,93	86,95
KP2	1	91,80	87,14	90,62	90,54
	2	88,52	87,09	88,88	85,00
	3	92,64	94,20	90,62	92,40
	4	91,80	89,83	90,00	91,30
	5	88,57	90,14	90,90	89,65
	6	93,54	90,54	92,75	93,47

**Lampiran 7. Hasil Analisis Uji Statistik *Saphiro-Wilk, Levene, One-Way Anova*, dan Uji *Post Hoc Multiple Comparisons***

**Uji Normalitas *Saphiro Wilk***

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KP2	.102	24	.200*	.971	24	.697
KP1	.080	24	.200*	.985	24	.965
KNegatif	.160	24	.115	.952	24	.893
KNormal	.101	24	.200*	.956	24	.368

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

**Uji *Levene***

**Test of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Nilai	Based on Mean	2.512	3	92	.063
	Based on Median	2.507	3	92	.064
	Based on Median and with adjusted df	2.507	3	80.438	.065
	Based on trimmed mean	2.502	3	92	.064

**Uji *One-Way Anova***

**ANOVA**

Nilai

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1277.287	3	425.762	85.493	.000
Within Groups	458.167	92	4.980		
Total	1735.453	95			

## Uji *Post-Hoc Multiple Comparisons*

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Nilai

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean		Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
KKN	KK-	9.94208*	.64421	.000	8.2564	11.6277
	KP1	3.77708*	.64421	.000	2.0914	5.4627
	KP2	2.62458*	.64421	.000	.9389	4.3102
KK-	KKN	-9.94208*	.64421	.000	-11.6277	-8.2564
	KP1	-6.16500*	.64421	.000	-7.8506	-4.4794
	KP2	-7.31750*	.64421	.000	-9.0031	-5.6319
KP1	KKN	-3.77708*	.64421	.000	-5.4627	-2.0914
	KK-	6.16500*	.64421	.000	4.4794	7.8506
	KP2	-1.15250	.64421	.233	-2.8381	.5331
KP2	KKN	-2.62458*	.64421	.000	-4.3102	-.9389
	KK-	7.31750*	.64421	.000	5.6319	9.0031
	KP1	1.15250	.64421	.233	-.5331	2.8381





